

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL**

**Facultad Ciencias de la Vida**

Evaluación in vivo de bioestimulantes en plántulas de  
banano

**PROYECTO INTEGRADOR**

Previo la obtención del Título de:

**Bióloga**

Presentado por:

Arianna del Carmen Mite Suárez

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año: 2022

## DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado en primer lugar a Dios por permitirme llegar hasta esta etapa de mi vida no solo con salud sino en compañía de los que más quiero. A mi familia, especialmente a mis padres por sus consejos y apoyo incondicional, a mis hermanas y demás familiares, por motivarme y nunca dejar de creer en que alcanzaría esta meta a pesar de que desconocían exactamente de qué me graduaría... LOS AMO

A Dan por siempre estar ahí, brindarme su constante amor y confianza, apoyarme en cada paso que doy y regresarme a órbita cuando me descarrilo.

A una de las almas más nobles, el cual la vida me dio el privilegio de tenerlo como abuelo, Papi Pepe, quien fijo ya celebró en el cielo porque otra de sus muchachitas lo logró.

A mis amigos y conocidos con los que coincidí durante toda la etapa universitaria.

## AGRADECIMIENTOS

Primero agradecer a Dios por darme la sabiduría y esfuerzo necesario para cumplir esta meta.

Agradecimiento total a CIBE por prestar sus instalaciones para la elaboración y ejecución de cada una de las fases que formó parte de este estudio.

Mi sincero agradecimiento a mi tutora, Patricia Manzano Santana PhD., por la confianza brindada desde mi período de pasante hasta el último día de la realización de este trabajo, por las lecciones y consejos impartidos y más que todo por la paciencia.

A Eduardo Sánchez Timm PhD., quien fue el otro mentor de este estudio, por la confianza depositada y facilidades brindadas durante la fase de evaluación. A cada uno de los analistas y tesistas de maestría del laboratorio de Bioproductos, por las guías, enseñanzas, apoyo y amistad brindados desde el día 1 que estuve en esa área, gracias por ayudarme a despertar esa parte química/científica que estaba dormida en mí.

A cada uno de los docentes que impartieron sus conocimientos a lo largo de estos años, estimulando el interés a las distintas ramas que implica la Biología. Finalmente, a cada cliente de Playas que sin saberlo alivianaron la carga económica que implicaba toda esta travesía como estudiante de fuera de Guayaquil, desde el día 0 hasta el día de hoy. Gracias por la confianza y considerarnos para sus grandes o pequeños eventos.

## DECLARACIÓN EXPRESA

“Los derechos de titularidad y explotación, me(nos) corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; (*nombre de los participantes*) y doy(damos) mi(nuestro) consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual”

A handwritten signature in blue ink that reads "Arianna Mite S." enclosed in a light blue rectangular box.

---

Arianna del Carmen Mite Suárez

## EVALUADORES

**Patricia  
Manzano  
Santana**

Firmado digitalmente  
por Patricia Manzano  
Santana  
Fecha: 2022.09.24  
22:28:42 -05'00'

---

**Diego Arturo Gallardo Polit, MSc.**  
PROFESOR DE LA MATERIA

---

**Patricia Isabel Manzano Santana, PhD.**  
PROFESOR TUTOR

## RESUMEN

Las exportaciones de banano en Ecuador anualmente muestran variaciones positivas de hasta un 1.4%, que generan divisas económicas a nivel internacional, por lo que actualmente este producto agrícola es una de las principales potencias para el desarrollo económico del país. Debido a este consumo externo, productores locales se ven obligados a mejorar la calidad de sus productos con la aplicación de insumos químicos, los cuales causan daños al medio ambiente, motivo que está impulsando a la búsqueda de alternativas naturales que reemplacen a estos insumos de origen sintético.

El presente estudio elaboró y evaluó la actividad de dos bioproductos bioestimulantes denominados como SM (solución madre) y SU (solución ulva), los cuales se hicieron utilizando biomasa residual integrado con macroalgas marinas (*Kappaphycus alvarezii* y *Ulva lactuca*) y la planta invasora de ecosistemas acuáticos *Azolla filiculoides*; la fase de evaluación se realizó en plántulas de banano de variedad "Williams" durante un período de 30 días, considerando como control un producto comercial denominado SC, además de tres variables físicas: Altura de plantas, cantidad de clorofila y tamaño de raíces, obteniendo al finalizar el período de evaluación  $4.17 \pm 12.31$  cm,  $15.58 \pm 2.78$  ICC,  $6.40 \pm 2.45$  cm, correspondientemente como los datos más altos registrados. Las técnicas analíticas que se emplearon en la caracterización química de los bioproductos utilizados en el ensayo mostraron que el bioproducto SM posee una mayor capacidad antioxidante DPPH que SU y SC de ( $477.34 \pm 25.98$ ;  $203.45 \pm 7.5$ ;  $18.37 \pm 9.0$   $\mu\text{mol/L}$  EqTrolox/g), polifenoles totales PT ( $737.89 \pm 10.64$ ;  $102.44 \pm 1.47$ ;  $227.04 \pm 1.15$   $\mu\text{g}$  GAE/g) y de flavonoides totales FT ( $236.78 \pm 7.96$ ;  $193.46 \pm 2.67$ ;  $62.89 \pm 3.10$   $\mu\text{g}$  QE/g), El análisis de datos obtenidos de las distintas variables mostró a la SM como el mejor bioproducto debido a que no solo contiene fitohormonas, sino también polifenoles, por lo que con investigaciones futuras que incluyan además de la misma evaluación a distintas concentraciones de esta solución en ambientes no controlados, también estudios in vivo para estudiar el comportamiento de los tejidos vegetales frente a este bioproducto permitirán garantizar la efectividad de este bioestimulante y colocarlo como nueva alternativa orgánica dentro del mercado agrícola ecuatoriano.

**Palabras claves:** bioestimulante, bioproducto. fitohormonas, polifenoles, trans zeatina

## **ABSTRACT**

*Annual banana exports in Ecuador show positive variations of up to 1.4%, which generate foreign exchange at the international level, making this agricultural product one of the main sources of economic development in the country. Due to this external consumption, local producers are forced to improve the quality of their products with the application of chemical inputs, which cause damage to the environment, a reason that is driving the search for natural alternatives to replace these inputs of synthetic origin.*

*The present study elaborated and evaluated the activity of two biostimulant bioproducts called SM (mother solution) and SU (Ulva solution), which were made using residual biomass integrated with marine macroalgae (*Kappaphycus alvarezii* and *Ulva lactuca*) and the invasive plant of aquatic ecosystems *Azolla filiculoides*; the evaluation phase was carried out on banana seedlings of the "Williams" variety during a period of 30 days, considering as a control a commercial product called SC, in addition to three physical variables: Plant height, amount of chlorophyll and root size, obtained at the end of the evaluation period 4.  $17 \pm 12.31$  cm,  $15.58 \pm 2.78$  ICC,  $6.40 \pm 2.45$  cm, correspondingly, as main dates. The analytical techniques used in the chemical characterization of the bioproducts used in the trial showed that the bioproduct SM has a higher DPPH antioxidant capacity than SU and SC of ( $477.34 \pm 25.98$ ;  $203.45 \pm 7.5$ ;  $18.37 \pm 9.0$   $\mu\text{mol/L EqTrolox/g}$ ), total polyphenols PT ( $737.89 \pm 10.64$ ;  $102.44 \pm 1.47$ ;  $227.04 \pm 1.15$   $\mu\text{g GAE/g}$ ) and total flavonoids FT ( $236.78 \pm 7.96$ ;  $193.46 \pm 2.67$ ;  $62.89 \pm 3.10$   $\mu\text{g QE/g}$ ). The analysis of data obtained from the different variables showed SM as the best bioproduct because it contains not only phytohormones, but also polyphenols, so that future research that includes not only the same evaluation at different concentrations of this solution in uncontrolled environments, but also in vivo studies to study the behavior of plant tissues against this bioproduct will guarantee the effectiveness of this biostimulant and place it as a new organic alternative in the Ecuadorian agricultural market.*

*Key words: biostimulant, bioproduct, phytohormones, polyphenols, trans zeatin*

# ÍNDICE GENERAL

RESUMEN .....	I
ABSTRACT .....	II
ÍNDICE GENERAL .....	III
ABREVIATURAS .....	V
SIMBOLOGÍA.....	VI
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	VII
ÍNDICE DE TABLAS .....	VIII
CAPÍTULO 1 .....	1
1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Descripción del problema .....	3
1.2 Justificación del problema .....	5
1.3 Objetivos .....	7
1.3.1 Objetivo General.....	7
1.3.2 Objetivos Específicos.....	8
1.4 Marco teórico .....	8
1.4.1 Bioestimulantes .....	8
1.4.2 Bioestimulantes de macroalgas .....	9
1.4.3 Fitohormonas.....	10
1.4.4 Bioinsumos con extractos naturales.....	13
1.4.5 <i>K. alvarezzi</i> en agricultura.....	14
1.4.6 <i>Ulva Lactuca</i> en agricultura.....	15
1.4.7 <i>Zea Mays</i> : Tusa y aplicaciones .....	15
1.4.8 <i>Azolla</i> sp .....	15
1.4.9 Cáscara de cacao: Aplicaciones .....	15
1.4.10 Banano variedad Williams .....	16
1.4.11 Polifenoles .....	16
1.4.12 Determinación de polifenoles y flavonoides totales .....	17
1.4.13 Actividad antioxidante DPPH .....	17
CAPÍTULO 2 .....	18
2 METODOLOGÍA .....	18
2.1 Área de estudio .....	18
2.2 Descripción del proceso .....	18

2.2.1	Equipos y reactivo .....	19
2.2.2	Recolección de muestras.....	20
2.2.3	Obtención de extractos. ....	20
2.2.4	Obtención de trans zeatina .....	21
2.2.5	Obtención de polifenoles .....	22
2.2.6	Cuantificación de polifenoles totales: Método Folin - Ciocalteu.....	22
2.2.7	Actividad antioxidante DPPH .....	22
2.2.8	Contenido total de flavonoides.....	23
2.2.9	Elaboración de productos finales .....	23
2.2.10	Evaluación del efecto de la aplicación de los dos productos elaborados a plántulas de banano variedad Williams a nivel invernadero .....	24
2.2.11	Análisis estadístico .....	25
2.2.12	Determinación de % de mortalidad y supervivencia.....	26
CAPÍTULO 3.....		27
3	RESULTADOS Y ANÁLISIS .....	27
3.1	Caracterización química de bioestimulantes .....	27
3.2	Evaluación de bioestimulantes en plántulas .....	28
3.2.1	Altura de plántulas .....	28
3.2.2	Índice de contenido de clorofila.....	29
3.2.3	Tamaño de raíces.....	30
3.2.4	Capacidad antioxidante DPPH y flavonoides en plántulas .....	31
3.3	Tasa de mortalidad y supervivencia de plántulas a los 30 días. ....	32
3.4	BioinsUMO orgánico que contenga además de fitohormonas, polifenoles.....	33
CAPÍTULO 4 .....		35
4	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	35
4.1	Conclusiones.....	35
4.2	Recomendaciones.....	36
BIBLIOGRAFÍA .....		37
Apéndices .....		51

## ABREVIATURAS

ESPOL: Escuela Superior Politécnica del Litoral

CIBE: Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador

DPPH: Radical 2,2 – difenil-1-picrilhidrazilo

GA: Ácido giberélico

AIA: Ácido indolacético

QE: Equivalente de quercetina

GAE: Equivalente de ácido gálico

EqTrolox: Equivalente Trolox

SM: Solución madre

SU: Solución Ulva

SC: Solución Comercial

ANOVA: Análisis de varianza

CPT: Contenido de polifenoles totales

CFT: Contenido de flavonoides totales

PT: Polifenoles totales

FT: Flavonoides totales

## SIMBOLOGÍA

%	porcentaje
°C	grado centígrado
cm	centímetro
mm	milímetro
M	Molar
µg	microgramo
µmol	micromol
mg	miligramo
pH	potencial de hidrógeno
mL	mililitro
ppm	partes por millón
p/v	peso por volumen
RPM	revoluciones por minuto
Icc	índice de contenido de clorofila

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Figura 1.1.- Fitohormonas vegetales más comunes en la naturaleza. (Alcántara Cortés, Acero Godoy, Alcántara Cortés , & Sánchez Mora, 2019) .....	11
Figura 2.1.- Diagrama del proceso de elaboración y aplicación de bioestimulantes a plántulas de banano variedad “Williams .....	18
Figura 3.1.- Altura promedio plántulas día 0 y día 30 .....	28
Figura 3.2.- Índice de clorofila promedio día 0 y día 30. ....	30
Figura 3.3.- Crecimiento promedio de raíces día 0 y día 30. ....	31

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1.- Obtención de materias primas. ....	20
Tabla 3.1.- Valores de DPPH, polifenoles y flavonoides de "Solución madre", "Solución Ulva" y "Solución comercial".....	28
Tabla 3.2.- Diferencial promedio de alturas de plántulas por cada solución.....	29
Tabla 3.3.- Diferencial promedio de contenido de clorofila día 0 y día 30. ....	29
Tabla 3.4.- Valores capacidad antioxidante DPPH y flavonoides de plántulas día 0 y día 30.....	32
Tabla 3.5.- Mortalidad y sobrevivencia de plántulas expuestas a distintos tratamientos durante 30 días. ....	32
Tabla 2.0.1.- Curva de calibración Folin – Ciocalteu (Zhong , y otros, 2020). ....	53
Tabla 2.0.2.- Curva de calibración de catequina (Avramova, y otros, 2017) .....	54

# CAPÍTULO 1

## 1 INTRODUCCIÓN

Una de las actividades de gran relevancia que ha sido realizada por años en Ecuador, es la agricultura, de donde destaca al sector bananero como una de las grandes potencias con respecto al desarrollo económico del país, al generar plazas de empleo principalmente en la región costera; además de ser uno de los principales productos de exportación (Sánchez, Vayas , Mayorga, & Freire, 2020). Según datos revelados por el Banco Central (MCE, 2017), el cultivo de banano representa el 2% del PIB (Producto Interno Bruto) general y aproximadamente el 35% del PIB agrícola. Otro de los productos más significativos para la economía del país es el cacao, mismo que a partir de los años 80 ha generado importantes divisas, siendo el quinto producto más exportado dentro de exportaciones no petroleras, convirtiendo a Ecuador en el principal exportador mundial de cacao fino y de aroma (López Guerrero , 2015).

Para el año 2020 (INEC - ESPAC, Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua 2020, 2021) se reportó 165.080 ha de superficie plantada de banano a nivel nacional, encontrándose mayor concentración en las provincias de Los Ríos (33.83%), Guayas (25.52%) y El Oro (26.30%), mientras que la plantación de cacao a nivel nacional en el mismo año ocupaba 590.579 ha, de igual forma la provincia de Los Ríos tenía la mayor concentración de producción con el 22.68%, seguido de Guayas y Manabí con el 19.57% y 19.10% respectivamente.

Inducidos por la alta demanda de consumo externo, los productores se ven obligados a perfeccionar la calidad de sus productos, apoyándose de medios que permitan optimizar sus cosechas (Chóez Guaranda, 2012), para el año 2020 el 56.8% de la superficie con cultivos permanentes (banano, cacao, entre otros) se aplicaron insumos de síntesis química, mientras que en el 3% del área cultivada se usaron únicamente insumos orgánicos (INEC - ESPAC, 2021). De todos estos plaguicidas y/o fertilizantes, el 35.66% de productores priorizan la efectividad dejando el costo que estos productos puedan tener como segundo plano al momento de realizar la compra (INEC I. N., 2015).

Para el 2021 se reportó una certificación de aproximadamente 300.000 toneladas de cacao en grano, mismos de donde se derivan distintos productos o subproductos que serán de exportación, incluido cáscara y cascarilla de cacao (AGROCALIDAD, 2021), estos residuos orgánicos algunos países suelen aprovecharlos como materia prima dado la cantidad de nutrientes como vitaminas y minerales, además de las propiedades que posee (Vélez, Gañan, Severiche, Hincapie, & Restrepo, 2009).

Martillo Aseffe y otros (2019), en su estudio reportaron que para el año 2019 se estimó un volumen solo de tusas aproximado de 0.878 tm/ha por cosecha, mientras que para 2020 se generaron entre 16 a 30 quintales de residuos de maíz (Guamingo Rojas & Llor Albán, 2020), mismos que suelen ser quemados como método para eliminarlos, contribuyendo a la generación de gases de efecto invernadero como metano y ácido nitroso (INEC - ESPAC, 2021; Delgado, Navarrete, Nole, & Hernández, 2020).

Ante la problemática ambiental, la agroindustria se ve forzada a buscar alternativas naturales que reemplacen a los insumos de origen sintético en las mejoras de cultivos, es por ello que a partir de 1980 se da el expendio de aplicar extractos de algas marinas en el sector comercial agrícola (Craigie, 2011), alcanzando actualmente más del 33% del mercado a nivel mundial de bioestimulantes vegetales (El Boukhari, Barakate, Bouhia, & Lyamlouli, 2020) por ser considerados como insumos ecológicos, biodegradables, no son tóxicos y lo más importante, son seguros tanto para la salud animal como humana (Espinoza Antón, Hernández Herrera, & González González, 2020). Debido a su composición química, los extractos de algas día a día están generando gran interés en el mercado agrícola, entre los que se han identificado citoquininas, auxinas, ácido abscísico, giberelinas, ácido salicílico, poliaminas y etileno, mismas que al ser combinadas ofrecen grandes beneficios a las plantas (Espinoza Antón, Hernández Herrera, & González González, 2020). Castro González y otros (1996) resaltan que también posee además de carbohidratos, su alto contenido de minerales como calcio, hierro, fósforo y cloro.

Actualmente se han identificado aproximadamente 10.000 especies de macroalgas, las cuales se han clasificado en el phylum *Hetrokontophyta*, phylum *Rhodophyta* y el phylum *Chlorophyta* (Suárez , Daranas, & Alfonso, 2015). En su estudio realizado en Ecuador, Rubira Carvache (2012) identificó 21 especies de algas marinas bentónicas, correspondientes a las divisiones *Chlorophyta*, *Rodophyta*, *Heterocontonphytas*, sin embargo, los estudios ficológicos en el país son deficientes (Sánchez & Torres, 2021).

Siguiendo la línea natural de alternativas de insumos agrícolas, se encuentra el helecho *Azolla*, perteneciente a la familia *Salviniaceae*; agrupa especies como *A. filiculoides*, *A. microphylla*, *A. caroliniana*, *A. pinnata* (González García & Suárez Hernández, 1998). Este helecho es muy usado en el área agrícola, debido a la alta capacidad que posee para fijar nitrógeno, 30 – 60 Kg N  $ha^{-1}$  (Ripley , Kiguli, Barker, & Grobbelaar, 2003), además es capaz de incrementar la toma de nutrientes y elementos como calcio, magnesio y potasio (Awodun, 2008). Entre sus componentes encontramos fitohormonas como auxinas, citoquininas y giberelinas, aminoácidos esenciales, proteínas y vitaminas, de modo que permite mejorar el rendimiento de cultivos (Shaltout, El-Komi, & Eid, 2013; Bindhu, 2013).

## 1.1 Descripción del problema

Debido a un anormal desarrollo en los cultivos de banano causado por nemátodos, existiendo más de 30 especies asociados a estos daños, en Ecuador ya se han reportado pérdidas anuales de hasta 19.7% en cosechas (Cedeño Franco, 2017), y como una de las medidas usadas para su control, es la aplicación de nematicidas químicos, mismos que además de ser costosos también son altamente contaminante con el medio ambiente (Espinoza Chunzo, 2017).

Montatixe Sánchez & Eche Enriquez (2020) mencionan que la degradación del suelo no solo puede darse por eventos climáticos extremos y persistentes, sino también por el entorno humano con la actividad agrícola, producto de malas prácticas culturales donde se destaca el uso desmesurado de fertilizantes, pesticidas y equipos agrícolas.

Es importante mencionar que en la industria cacaoera, las semillas de cacao pasan por un proceso de secado, fermentado y tostado, y como residuo se obtiene una biomasa sub utilizada conocida como cascarilla (Teneda Llerena, Guamán Guevara, & Oyaque Mora, 2019), el cual representa aproximadamente 12% del peso de la semilla, por lo que a nivel nacional se genera un aproximado de 41 mil toneladas métricas anuales de este tipo de desechos (Vivanco Carpio , Matute Castro, & Campo Fernández , 2017). Sin embargo, por desconocimiento de productores locales, estos residuos terminan siendo desechados en botaderos generando problemas ambientales (Hernández Pereira , 2015) por los olores fétidos que emiten en su proceso de descomposición o simplemente son incinerados (Teneda Llerena, Guamán Guevara, & Oyaque Mora, 2019).

Para el año 2016 (Gavilanes - Terán, y otros, 2017) reportaron que en las procesadoras de maíz se producían alrededor de 55% de residuos considerando una relación producto – residuo; mismos que suelen ser quemados o depositados en botaderos a cielo abierto, superficies de terrenos secos o vacíos (Riera , Maldonado, & Palma, 2018).

En Ecuador, los datos de un aprovechamiento eficiente de los residuos que se generan ya sean en procesos agroindustriales o de pérdidas en postcosecha, son nulos, debido a la escasez de conocimiento del valor que estos residuos puedan aportar (Peñañiel Acosta, Brito Zúñiga, Muñoz Shugulí, Zabala Peñañiel , & Chafra Moina, 2015). Entre las propiedades que se le otorgan a esta biomasa, resalta su capacidad antioxidante y baja toxicidad, gracias al contenido de polifenoles que posee, siendo de gran interés los flavonoides como catequina (37%), antocianinas (4%), procianidinas (58%) (Negaresh & Marín, 2013); los taninos, antocianinas y proantocianidinas también forman parte de compuestos que otorgan dicha capacidad antioxidante a la cascarilla de cacao (Jokic, Tanja , Knez, Subaric, & Skerget, 2018). En su estudio Manzano P. y otros (2017) reportaron un contenido total de polifenoles de  $6.04 \pm 0.12$  mg GAE/g. Mientras que, Ordóñez y otros (2019), midieron la capacidad antioxidante frente al radical DPPH, registrando un

valor IC50 de  $7.04 \pm 0.02$  mg/mL, valor que puede variar considerando el tostado y fermentación del grano.

Por otro lado, y siguiendo la línea de bioinsumos para la agricultura, existen evidencias científicas que corroboran la acción estimulante de los extractos de algas marinas en la germinación de semillas, vigor de plántulas, crecimiento y morfología de raíces, rendimiento de cultivos y calidad nutricional de productos comestibles (Khan, y otros, 2009). Sin embargo, debido a la complejidad de los compuestos bioactivos que los conforman, los mecanismos de acción de estos sobre plantas no están totalmente claros (Espinoza Antón, Hernández Herrera, & González González, 2020).

A partir del año 1982, la presencia de macrófitas en cuerpos de agua ha ido en aumento, usándose especialmente de forma ornamental (Teniente, 2020).

Debido a su rápida reproducción, la irrupción de especie macrófitas invasoras como por ejemplo *Azolla sp.*, se han convertido en una amenaza para lagos neotropicales poco profundos (Salgado, y otros, 2019). Entre los efectos está la reducción en la supervivencia de especies acuáticas, disminución de la calidad de agua, obstrucción de la navegación (Gopal, 1987). En su trabajo, Teniente (2020) cita las palabras de Carlos Sánchez, presidente de Fundación Naturaleza y Hombre, quien indica que “estos helechos impiden que los rayos de luz penetren hasta la profundidad, además aportan materia orgánica en grandes cantidades provocando así una deficiencia de oxígeno”.

## **1.2 Justificación del problema**

Con el fin de optimizar los cultivos e impulsados por el acelerado deterioro de los agroecosistemas en las últimas décadas, se ha buscado formular y obtener nuevos y mejores productos (Espinoza Antón, Hernández Herrera, & González González, 2020), obtenidos de materias primas locales que estimulen el crecimiento de plantas (Calvo Velez, Nelson, & Kloepper, 2014).

Dentro del grupo de fitohormonas que las plantas sintetizan de forma natural se encuentran las citoquininas (Chong, 1998), mismas que además de promover el crecimiento vegetal, también promueven la división, multiplicación y diferenciación celular (Flores & Pereira, 2008). La trans zeatina es una citoquinina presente en hojas, granos y tusa de *Zea Mays* (Letham, 1973). Entre los resultados obtenidos en su trabajo para las muestras secas de tusa, Chóez Guaranda (2012) reportó una concentración de trans zeatina promedio de 0.176 mg/g, valor que supera la concentración de esta fitohormona en otros bioinsumos; por lo que se recalca la importancia de utilizar extractos provenientes de estos residuos en nuevas formulaciones.

Las cáscaras de cacao contienen altos niveles de carbohidratos, fibra, proteínas, pectinas y compuestos bioactivos entre los que destacan polifenoles y carotenoides (Pérez Laytón & Pulido Molano, 2014; Villamizar Jaimes & López Giraldo, 2017), Hernández (2015) reportó que por cada 9 kg de cascarilla de cacao se obtiene un rendimiento de 1 kg de polifenol, lo cual representa el 11% en peso, pero debido al desecho de estos residuos, se desaprovechan las propiedades antioxidantes naturales capaces de inactivar radicales libres, previniendo enfermedades degenerativas, diversos tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares, etc. (Teneda Llerena, Guamán Guevara, & Oyaque Mora, 2019; Barazarte, Sangronis, & Unai, 2008).

En su estudio, Fayaz y otros (2005) describen a la especie *Kappaphycus alvarezii*, como rica en proteínas (16.24% p/p) con una alta cantidad de fibra (29.40% p/p) y carbohidratos (27.4% p/p), como fuente de minerales como son calcio, hierro y zinc (0.16%, 0.033% y 0.016% respectivamente), además que un 44.50% de su contenido total corresponde a ácidos grasos insaturados y el 37.0% corresponde a ácidos grasos saturados. Espinoza y otros (2020) señalan que entre los beneficios estimulantes que se pueden obtener de los extractos de algas marinas están: Germinación de semillas, vigorosidad de plántulas, crecimiento y morfología de raíces, madurez de frutos, provecho de cultivos y calidad nutricional de productos.

La especie *Azolla sp* posee una composición química, capaz de ofrecer propiedades nematocidas una vez descompuesta (Castro Alvarez, y otros, 2007). Según (Misha, Singh, Mishra, & Shashi, 2013), la *Azolla* contiene entre un 4 y 5% de nitrógeno en materia seca y un 0.2 y 0.4% de N en material húmedo, además en forma de biofertilizante puede contribuir con grandes cantidades de macronutrientes como P, K, S, Zn, Fe, Mb y otros micronutrientes. Por los beneficios anteriormente mencionados, hacen que la aplicación de *Azolla* como biofertilizante, se aumente rendimiento de cultivos y a la vez se reduzcan costos (Wagner, 1997). Otra especie de alga, *Ulva lactuca* contiene componentes bioactivos como ácido ascórbico, betaína, glutatión y prolina, mismos que pueden participar potencialmente en el alivio del estrés por salinidad (Ibrahim, Hemida, & Sayed, 2014); sin embargo, los antecedentes de la aplicación de estas especies como materia prima para productos agrícolas son pocos.

Por lo anteriormente expuesto, debida a la falta de información acerca de los beneficios que se pueden adquirir de lo que la sociedad considera desechos, para el caso de la cascarilla de cacao y la tusa del maíz, éstos están siendo totalmente desperdiciados, lo contrario sucede con las algas y azolla; los cuales actualmente ya están siendo aprovechados en áreas como biotecnológicas, farmacéuticas o alimenticias, pero con un grado de deficiencia en el área agrícola. Así con el presente trabajo ofrecer una nueva alternativa en el mercado de bioestimulantes en Ecuador.

### **1.3 Objetivos**

#### **1.3.1 Objetivo General**

Evaluar la efectividad de bioestimulantes elaborados a partir de extractos acuosos de *Azolla sp*, *Ulva lactuca*, *Kappaphycus alvarezii*, enriquecidos con polifenoles obtenidos de la cascarilla de cacao y trans zeatina proveniente de la tusa de *Zea mays*, mediante la aplicación a plántulas de banano de variedad Williams para disminuir el uso de agroquímicos en plantaciones desde su etapa inicial.

### 1.3.2 Objetivos Específicos

1. Seleccionar métodos de extracción de los compuestos bioactivos presentes en cascarilla de cacao, *Ulva lactuca*, *K. alvarezii*, *Azolla sp.*, tusa de *Z. mays* para el diseño de los productos bioestimulantes.
2. Analizar la variación de las plántulas bajo la aplicación de los productos bioestimulantes mediante la medición de las variables fisiológicas, químicas y bioquímicas de las plántulas de banano durante 30 días en invernadero, tales como: altura, tamaño de raíces, clorofila, actividad antioxidante y cantidad de flavonoides.
3. Caracterizar los productos bioestimulantes obtenidos mediante métodos espectroscópicos y electroforéticos en las mediciones de la actividad antioxidante DPPH, cantidad de polifenoles y flavonoides en los productos para garantizar las propiedades de estos.

## 1.4 Marco teórico

### 1.4.1 Bioestimulantes

Actualmente existen varias definiciones para bioestimulante, ya que dependerá de su origen, funcionamiento y mecanismo (Barragán Lucas, Van Den Hende, Sánchez - Timm, Astudillo Ochoa, & Manzano Santana, 2020). Según lo revisado por du Jardin (2015) este indica que una de las primeras definiciones propuestas para bioestimulantes se las acuña a Zhang y Schmidt, quienes lo definieron como “materiales que en mínimas cantidades son capaces de promover el crecimiento de plantas”, sin descartar esta definición, Kauffman y otros (2007) recalcan que este compuesto no es un fertilizante, además de que los clasificaron de acuerdo a su fuente y contenido: Sustancias húmicas, productos que contienen hormonas y productos que contienen aminoácidos.

En su estudio Albán (2014) cita a Futureco, quien sostiene a los bioestimulantes como sustancias orgánicas que en su mayoría se derivan de materiales vegetales, en forma de extractos, algas marinas entre otros, garantizando así una

alta concentración de aminoácidos útiles y una relación equilibrada de nutrientes acorde con las necesidades de las plantas.

La UE (2019) clasifica a los bioestimulantes como sustancias naturales bioactivas englobando a: ácidos húmicos y fúlvicos, hidrolizados de proteínas animales y vegetales, extractos de macroalgas marinas y silicio, así como microorganismos benéficos: hongos micorrízicos arbusculares y bacterias fijadoras de N (*Rhizobium*, *Azobacter* y *Azospirillum*) (Colla & Rouphael, 2020)

Galán (2018) indica previo al trasplante de las plántulas a campos definitivos, es necesario pasar por una fase de enraizamiento, aclimatación o endurecimiento en vivero. Durante esta etapa el uso de bioestimulantes es considerado esencial para incrementar el crecimiento de la plántula, así como su capacidad adaptativa al estrés y supervivencia en campo (Cedeño García, Velázquez Cedeño, Avellán Cedeño, Cargua Chávez, & López Álava, 2021).

#### **1.4.2 Bioestimulantes de macroalgas**

Hoy en día la aplicación de mezclas de sustancias y/o organismos está en auge, debido a que favorece el uso eficiente de nutrientes, promueve la tolerancia de plantas bajo condiciones de estrés, entre otros (Mendoza Morales, Mendoza González, Mateo Cid, & Rodríguez Dorantes, 2019). Algas como *Ascophyllum nodosum* es una de las más usadas en la fabricación de productos agrícolas, debido a su alto contenido de compuestos bioactivos (Sharma , Fleming, Selby, Rao, & Martin, 2014) y amplio espectro de respuesta positiva que han tenido las plantas (Espinoza Antón, Hernández Herrera, & González González, 2020).

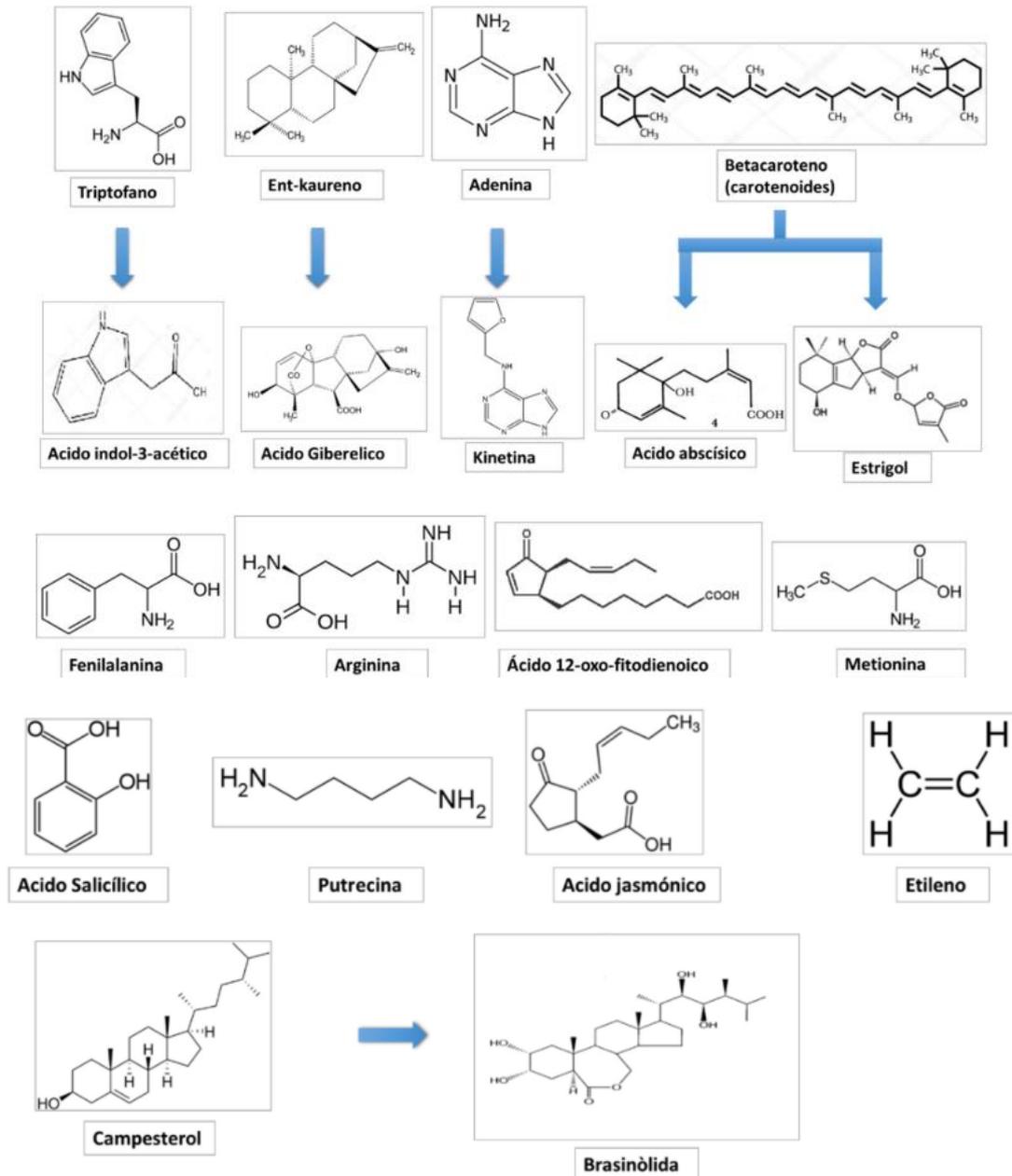
Entre los compuestos bioactivos mayormente identificados en las algas están las citoquininas, auxinas, ácido abscísico, giberelinas, ácido salicílico, poliaminas y etileno, destacando de ellas las citoquininas y auxinas (Craigie, 2011; (Wally, y otros, 2013). Además de nutrientes minerales como potasio, nitrógeno, magnesio, calcio y sodio (Hernández - Herrera, Santacruz - Ruvalcaba, Ruiz - López, Norrie, & Hernández - Carmona, 2014), micronutrientes y vitaminas, que en conjunto pueden mejorar la capacidad de retención de agua en las plantas,

además de optimizar el crecimiento de microbios benéficos del suelo, garantizando así un mejor desarrollo radicular, mejor absorción de nutrientes por las raíces, rendimiento en formación de frutos y defensa contra plagas, enfermedades y microorganismos (Salehi, y otros, 2019; (Patel, Pandya, Jasrai, & Brahmbhatt, 2017).

### **1.4.3 Fitohormonas**

A nivel interno las plantas producen un biocompuesto activo conocido como hormona vegetal o fitohormona, el cual opera a bajos niveles, ejerciendo un principal efecto en las células siendo que es capaz de alterar los patrones de desarrollo de las plantas (RedAgrícola, 2017).

Alcántara Cortés y otros (2019) las clasificaron en auxinas, ácidos giberelicos, citoquininas, ácido abscísico, ácido salicílico, poliaminas, ácido jasmónico y derivados, brasinoesteroides, etileno y estrigolactonas (Figura 1.1).



**Figura 1.1.- Fitohormonas vegetales más comunes en la naturaleza. (Alcántara Cortés, Acero Godoy, Alcántara Cortés , & Sánchez Mora, 2019)**

### 1.4.3.1 Auxinas

Consideradas como hormonas de crecimiento, debido a que estimulan el crecimiento incitados por estímulos de luz o gravedad (Zhao, 2010), participan durante todo el ciclo de vida la planta y se distribuyen diferencialmente dentro

de los tejidos dando origen a distintos procesos morfogénéticos (Garay Arroyo, De la Paz Sánchez, García - Ponce, Álvarez - Buylla, & Gutiérrez C., 2014), son capaces de estimular la diferenciación del xilema y el floema, además del desarrollo de estructuras florales. Otra funcionalidad es de conservar la dominancia apical, retardan la senescencia de las hojas y madurez de frutos, e impulsan la producción de etileno y enraizamiento. (Albán Cárdenas, 2014) Se ha identificado cuatro auxinas que las plantas sintetizan de forma natural: Ácido indolacético (AIA), ácido indol-3-butírico (IBA), ácido 4-cloroindol-3-acético (4-Cl-AIA) y ácido fenilacético (PAA) (Vega - Celedón, Canchignia Marínez, González , & Seeger, 2016).

El ácido indolacético es la auxina de mayor importancia, y la que se encuentra en mayor cantidad en las plantas, debido a que tiene profundos efectos en el proceso de desarrollo de las plantas (Zhao, 2010)

#### **1.4.3.2 Ácido abscísico**

Comúnmente denominado ABA, es capaz de privar e intervenir en ciertos procesos vegetales que por lo general se dan de forma natural (Alcántara Cortés, Acero Godoy, Alcántara Cortés , & Sánchez Mora, 2019). Se deriva de carotenoides y se sintetiza en los cloroplastos, por lo que es desde estos organelos donde se manifiestan indicios de estrés abiótico y se producen señales de protección a todas las células de la planta, activando así mecanismos de defensa (RedAgrícola, 2017). Está inmersa en procesos de regulación génica, fomento de senescencia y maduración del embrión vegetal (Colebrook , Thomas , Phillips , & Hedden, 2014). Alcántara y otros (2019), recalcan que altos niveles de esta fitohormona pueden originar una mala formación en la planta.

#### **1.4.3.3 Citoquininas**

Se derivan de la adenina, Alcántara Cortés y otros (2019) indican que estas fitohormonas poseen la capacidad de estimular e incitar una alta proliferación y división celular, la elongación de raíces se da por su estímulo, así como la activación de senescencia de hojas. Se la encuentra desde la raíz hasta las

partes aéreas de la planta (Yong, Ge, Yan Fei, & Ngim Tan, 2009). Se moviliza por toda la planta a través de la savia conducidos por el xilema (Meléndez Cerezo, 2021).

Trans zeatina: Chóez Guaranda (2012), cita que la trans zeatina es una citoquinina natural que se aísla de las plantas y presenta grandes utilidades para la agricultura ya que estimula ciertas funciones de la célula vegetal. Fue la primera citoquinina de origen vegetal identificada por Letham.

#### **1.4.3.4 Giberelinas**

También conocidos como ácidos giberélicos, descubiertas cuando se evaluaban fitopatologías relacionadas con arroz. Relacionada con el constante crecimiento de tejidos vegetales, como pueden ser hojas, raíces, en floración y otros procesos. Relevante para el desarrollo temprano de embriones (Alcántara Cortés, Acero Godoy, Alcántara Cortés , & Sánchez Mora, 2019).

#### **1.4.4 Bioinsumos con extractos naturales**

Hoy en día es posible hallar distintos productos que incluyan entre sus componentes distintas hormonas que no superan el 0.1g/l, junto a azúcares, vitaminas, minerales, aminoácidos, de igual forma en pequeñas cantidades (RedAgrícola, 2017).

Entre los beneficios que se obtienen al usar estos compuestos con ingredientes naturales destacan una mejor absorción, traslocación de nutrientes, aumento de resistencia frente a estrés o enfermedades y más vida postcosecha (RedAgrícola, 2017; (Vera, Castro, González, & Moenne, 2011)

El bioinsumo comercial usado para el presente trabajo corresponde a Evergreen de la empresa AGRIPAC, un fertilizante foliar que según Agrizon (2022) actúa como promotor de crecimiento y madurez de los cultivos tratados, promueve el incremento en vigor de plantas tratadas, además de estimular precocidad, por lo que el ciclo del cultivo en 3 a 8 días, esto último dependerá del cultivo y las

condiciones ambientales. Otro de los beneficios que ofrece este producto es incrementar el rendimiento en peso y calidad a la cosecha, ya que aumenta los sólidos solubles en cultivos como caña de azúcar, maracuyá, uvas, fresas, etc. Su composición química es: Nitrógeno 7.77% p/v, fósforo ( $P_2O_5$ ) 9.98% p/v, potasio ( $K_2O$ ) 8.33% p/v, Manganeseo (Mn) 0.01% p/v, Zinc (Zn) 0.01% p/v, ácido húmico 0.59% p/v, auxinas 5.20 ppm, giberelinas 0.36 ppm, citoquininas 210 ppm, como tal contiene 22 nutrientes: siete macronutrientes y reguladores del crecimiento de las plantas, ocho micronutrientes y siete vitaminas, todos pertenecen a extractos de plantas naturales (AGRIPAC, 2021).

#### **1.4.5 *K. alvarezii* en agricultura**

La especie *Kappaphycus alvarezii* es una macroalga del filo *Rhodophyta*, usada a nivel mundial para la extracción de carragenina, hidrocoloide de aplicación industrial, debido a su alta cantidad en biocompuestos es de gran interés en el área biotecnológica (da Cruz Suzart & do Amaral Vendramini, 2021).

Rani Juneius y otros (2018) entre los compuestos que han identificado del extracto a marino de *K. alvarezii* detalla 3% de NPK, 0.9% de Ca + Mg + Zn, 1.88% de aminoácidos + ácido fúlvico + ácido húmico y 0.5% de citoquininas + ácido algínico + matinol + giberelinas.

Entre los trabajos citados por Espinoza y otros (2020) acerca de los efectos positivos de extractos de macroalgas en la absorción y provecho de macro y micronutrientes en distintas variedades agrícolas sembradas en invernadero encontramos el de Karthikeyan y Shanmugam (2014) los cuales aplicaron foliarmente un producto comercial que contenía extracto de *K. alvarezii* al 3er, 5to y 7mo mes de plantadas a cuatro variedades evaluadas de *Musa sp*, obteniendo como resultado una mayor concentración (100 mg/g) de K, Ca, Fe y P en las frutas de plantas tratadas con respecto al control.

#### **1.4.6 *Ulva Lactuca* en agricultura**

Los componentes bioactivos en los extractos de *U. Lactuca* como ácido ascórbico, la betaína, el glutatión y la prolina podrían participar potencialmente en el alivio del estrés por salinidad (Ibrahim, Ali, Hemida, & Sayed, 2014).

#### **1.4.7 *Zea Mays*: Tusa y aplicaciones**

Una de las aplicaciones que se le ha dado a la tusa es explotar su potencial como combustible energético (Cassesus, Ambriz Pérez, & Santos Ballardo, 2021), también permite reducir el color de aguas residuales, entre otros. Entre sus componentes encontramos nutrientes como P, K, Ca y M (James Rivas, y otros, 2021), además, según Córdoba y otros (2013), es uno de los productos agrícolas con mayor cantidad de hemicelulosa (12.4%), además posee celulosa 30 – 50% y lignina 4.5 -18.8%.

#### **1.4.8 *Azolla* sp**

La *Azolla filiculoides* Lam. es un helecho acuático que posee la capacidad de fijar nitrógeno al entrar en simbiosis con cianobacterias, especialmente con *Anabaena* (Aldás Jarrín, y otros, 2016).

La composición química de *Azolla*, se ha reportado 28% de proteínas, gran fuente de aminoácidos como el ácido aspártico y glutamínico en un 60%, el porcentaje de nitrógeno en la planta dependerá si es muestra fresca o seca, abarcando entre un 0.2 y 5% (Méndez Martínez, Pérez Tamames, Reyes Pérez, & Puente Jiménez, 2018; Wagner, 1997).

#### **1.4.9 Cáscara de cacao: Aplicaciones**

Castro y otros (2016), en su estudio reportaron que la cantidad de polifenoles presentes en granos de cacao con grasa era de 5.39% y sin grasa de 6.26%, además de presentar una alta capacidad antioxidante. Por su parte Manzano y otros (2017) reportaron una cantidad total de polifenoles de  $6.04 \pm 0.12$  mg GAE/g. Entre los principales componentes de los granos de cacao están: Agua, grasa, compuestos fenólicos, materia nitrogenada (proteínas y purinas), almidón y otros

carbohidratos (Barazarte, Sangronis, & Unai, 2008; Villamizar Jaimes & López Giraldo, 2017; Castro, y otros, 2016).

Entre los usos que se le ha dado a la cascarilla de cacao se puede mencionar compostaje, alimento para ganado, infusión en bebidas como medida de prevención para enfermedades degenerativas. Sin embargo, el alto contenido de teobromina hace que la cascarilla se vaya acumulando, generando así una problemática más grave que afecta a productores directamente, dado que se convierte en foco de propagación de *Phytophthora spp* (Barazarte, Sangronis, & Unai, 2008; Guerrero, Suárez, & Orozco, 2017).

#### **1.4.10 Banano variedad Williams**

Considerada como la reina de las frutas tropicales, las plantas de banano (*Musa sp*) poseen un alto valor nutricional (Badgujar, Pujari, & Patil, 2009). La musácea de variedad Williams posee características de cultivo diferentes, por lo que se obtiene una alta producción y calidad en su fruto. Entre sus características fisiológicas resalta su pseudotallo vigoroso y amplio sistema radicular, por lo que presenta una gran resistencia a fuertes vientos, adaptabilidad a condiciones extremas ya sea en clima, suelo y agua. De gran importancia para el país, por ser uno de los principales productos de exportación (INEC, 2012)

#### **1.4.11 Polifenoles**

La generación de radicales libres está estrechamente relacionada con la oxidación de lípidos y sustancias biológicas (Sánchez Moreno, 2002). Los polifenoles presentan una alta capacidad antioxidante, misma que inhiben la descomposición de ciertas sustancias, reducen el estrés oxidativo e impiden el envejecimiento celular (Sindhi, y otros, 2013), por lo que actualmente el interés por investigar polifenoles de fuentes vegetales ha crecido. Los radicales libres son moléculas o fragmentos de moléculas que se identifican por ostentar uno o más electrones separados en su orbital externo, situación que los hace potencialmente reactivos (Guija Poma, Inocente Camones, Ponce Pardo, & Zarzosa Norabuena, 2015).

#### **1.4.12 Determinación de polifenoles y flavonoides totales**

El contenido de fenoles, flavonoides y taninos puede ser medido usando ensayos que permiten cuantificar el contenido total de polifenoles (CPT) y el contenido total de flavonoides (CFT) (Zhong , y otros, 2020). Uno de los ensayos de captación de radicales libres es el de polifenoles totales por el reactivo Folin Ciocalteu (Mendoza Isaza, Hoyos Arbelaéz, & Peláez Jaramillo, 2020). Esta reacción colorimétrica usada en el método espectrofotométrico UV/VIS (Pelozo de Godoy, Carvalho Cardoso, & Palazzo de Mello, 2008), se caracteriza por formar un complejo azul (Schofield, Mbugua, & Pell, 2001), en donde la máxima absorción dependerá de la solución alcalina y la concentración de compuestos fenólicos (Blainski , Cristiny Lopes, & Palazzo de Mello, 2013). Para evitar la turbidez de la solución, el reactivo Folin-Ciocalteu posee sales de litio (Folin & Ciocalteu, 1927). Los flavonoides poseen una alta actividad antioxidante. Para cuantificar flavonoides totales puede realizarse por medio de cromatografía de capa fina, cromatografía de gases, cromatografía líquida de alta eficiencia y espectrofotometría. El reactivo usado para el último método es la quercetina (Casanova Venegas, 2012)

#### **1.4.13 Actividad antioxidante DPPH**

Uno de los métodos válidos y más fáciles común para medir la capacidad antioxidante de los compuestos bioactivos es el ensayo DPPH, el cual usa el radical libre 2,2 – difenil – 1- picrilhidrazilo, de donde se deriva su nombre común DPPH (Villaño, Fernández Pachón, Moyá, Troncoso, & García Parrilla, 2007). Este radical libre es susceptible de reaccionar con compuestos antioxidantes mediante un proceso que se caracteriza por la cesión de un átomo de hidrógeno proporcionado por el agente antioxidante (Guija Poma, Inocente Camones, Ponce Pardo, & Zarzosa Norabuena, 2015). Este ensayo es usado para evaluar la captación de transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) o de transferencia de un solo electrón (SET) de moléculas bioactivas (Yeo & Shahidi, 2019). La adición de un antioxidante da como resultado una baja de la absorbancia proporcional a la concentración y la acción antioxidante del propio compuesto (Brand Williams, Cuvelier, & Berset, 1995).

# CAPÍTULO 2

## 2 METODOLOGÍA

### 2.1 Área de estudio

Todo el proceso tanto de experimentación como de evaluación del presente estudio fueron realizados en el Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE), en las áreas a Bioprocesos y bioproductos, y en el invernadero de Cultivo de tejidos, mismas que corresponden a la Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), ubicado en el km. 30.5 de la vía Perimetral en la ciudad de Guayaquil, Ecuador.

### 2.2 Descripción del proceso

Para la realización del presente estudio y con fin de cumplir cada uno de los objetivos propuestos, las actividades realizadas se resumen en la figura 2.1.

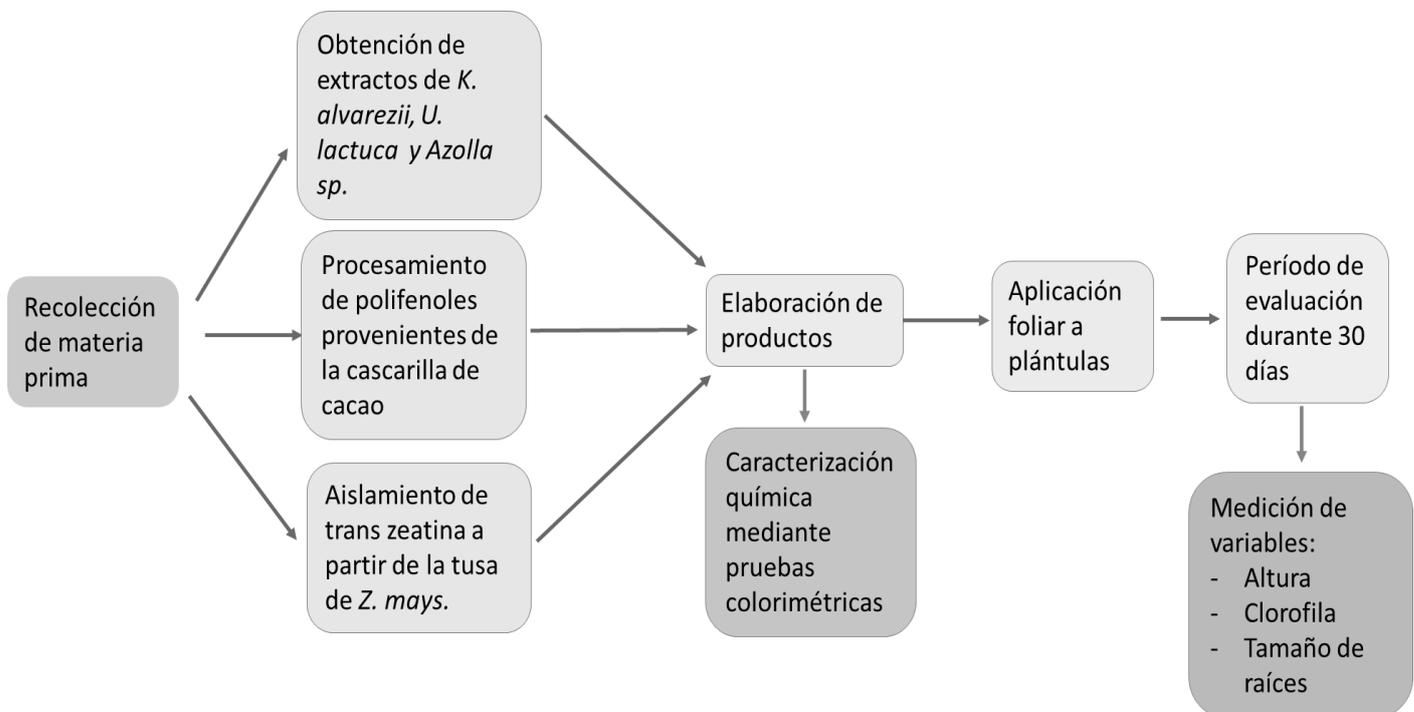


Figura 2.1.- Diagrama del proceso de elaboración y aplicación de bioestimulantes a plántulas de banano variedad "Williams"

## **2.2.1 Equipos y reactivo**

### **2.2.1.1 Equipos**

Secado o extracción de muestras se realizaron en una estufa marca Quimis.

Pesado de muestras y reactivos se utilizó una balanza analítica marca Isolab con capacidad máxima de 220g.

Para la trituración de muestras secas se utilizó un molinillo de café marca Daewoo

El almacenamiento de los extractos acuosos preparados se llevó a cabo en una refrigeradora marca DUREX modelo RDE3110YBE1.

El rotovaporador utilizado en el presente trabajo es marca Heidolph, Laborota 4100 series. Adicional para realizar la agitación de las muestras en maceración, se utilizó una Zaranda Shaker Marca New Brunswick, model Classic 40.

Para la respectiva lectura de absorbancia de las microplacas usadas en la medición de capacidad antioxidante o cantidad de polifenoles, se utilizó un espectrofotómetro ultravioleta-visible marca Synergy HT Biotek.

### **2.2.1.2 Reactivos**

Metanol

Agua destilada

BHT

Ácido acético al 1%

## 2.2.2 Recolección de muestras

En el diseño de los bioestimulantes se emplearon diferentes biomásas tanto terrestres como acuáticas y un residuo. La descripción de la procedencia de estos se detalla en la tabla 2.1:

**Tabla 2.1.- Obtención de materias primas.**

<b>Biomasa</b>	<b>Procedencia</b>	<b>Temperatura almacenaje</b>	<b>Fecha</b>
<b>Tusa de choclo</b>	Mercado Municipal de Bastión Popular de la ciudad de Guayaquil.	Ambiente	Junio 2022
<b>Cascarilla de cacao</b>	Maquita Agro, ubicado en la av. Honorato Honorato Vázquez y el km 26 de la vía Perimetral, en la ciudad de Guayaquil, Ecuador.	Ambiente	Junio 2022
<b><i>K. alvarezii</i> y <i>U. lactuca</i></b>	Procedencia de <i>K. alvarezii</i> : Sta. Rosa – Península de Sta. Elena Reserva mantenida en CIBE de estudios anteriores.	4°C	Enero / junio 2022
<b><i>Azolla sp.</i></b>	Reserva CIBE	Muestra seca: Ambiente Muestra fresca: 4°C	Junio 2022

## 2.2.3 Obtención de extractos.

Para el proceso de obtención de extracto acuoso de *K. alvarezii* se siguió el protocolo propuesto por Barragán Lucas (2020) registrado como secreto comercial PI-CIBE-005, mismo que es considerado al 100%.

Mientras que para la elaboración del extracto acuoso de *U. lactuca* se realizó de acuerdo con el procedimiento descrito por Ibrahim, Ali, Hemida & Sayed (2014), el cual primero indica que es necesario lavar el alga con agua potable y/o destilada para limpiarla de impurezas. Luego esta alga fue homogenizada en agua destilada (1:1 p/v) a temperatura ambiente, posteriormente es filtrada y almacenada. Este extracto es considerado como 100% de concentración. Para preparar las distintas concentraciones, se utilizó agua destilada.

El protocolo considerado para la elaboración del extracto acuoso de *Azolla sp* es el propuesto por Atteya, Albalawi, Alarmi, Bayomy & Genaidy (2022), el cual indica el uso de material previamente secado; la *Azolla* proporcionada para el presente estudio ya estaba seca, pero en caso de tener material fresco, se recomienda secar el material en un horno a 70°C durante 48 horas. De este material se maceró 300 g en 1000 ml de agua destilada, solución que estuvo a temperatura ambiente durante 24 horas. Pasado ese tiempo se filtra con ayuda de papel filtro. El concentrado aquí obtenido equivale al 100%.

#### **2.2.4 Obtención de trans zeatina**

Previo a la extracción de trans zeatina, se secó en estufa por 5 horas a una temperatura de 60°C las tusas de maíz, para luego continuar con el protocolo de extracción CBE-PROT-BP-039, que indica un proceso de maceración durante 24 horas, en ausencia de luz y a una temperatura de -17°C de 5g de muestra seca, con la adición de 50 ml una solución metanol-ácido acético (80:20) y 2 ppm de BHT, solución que posteriormente es sometida a proceso de filtrado. El extracto líquido obtenido es colocado en tubos Falcón de 50 ml y llevadas a centrifugar considerando 5°C, 5000 RPM durante 10 minutos, concentrando el extracto en un rotavaporador a 50°C y 120 RPM. Este último paso es importante y necesario, con la finalidad de eliminar cualquier rastro de alcohol, que pueda ocasionar algún daño a futuro a las plántulas.

### **2.2.5 Obtención de polifenoles**

Con la finalidad de hacer una producción en la que se aplique la menor cantidad de reactivos posibles, el procedimiento propuesto por Ricco y otros (2010) para la obtención de polifenoles de la cascarilla de cacao fue el seleccionado para el presente estudio, por lo que como primer paso primero fue necesario moler la cascarilla hasta obtener una consistencia pulverizada, luego se mezcla 5 g de la muestra pulverizada con 100 ml de agua destilada, formando una solución, misma que fue llevada a ebullición durante 20 minutos. Pasado ese tiempo, se dejó enfriar para posteriormente filtrar por gravedad.

### **2.2.6 Cuantificación de polifenoles totales: Método Folin - Ciocalteu**

Dentro del laboratorio de Bioprocesos y bioproductos del CIBE constantemente se busca mejorar los protocolos ya establecidos con nuevas metodologías propuestas en trabajos recientes, por lo que el protocolo de cuantificación de polifenoles que se siguió en este estudio fue el propuesto por Zhong y otros (2020), dado que a diferencia del procedimiento descrito por Manzano y otros (2017), este solo requiere 25  $\mu\text{L}$  de muestra, 25  $\mu\text{L}$  del reactivo Folin al 25%, 200  $\mu\text{L}$  de agua y 25  $\mu\text{L}$  de carbonato de sodio al 10%. Los puntos de concentración considerados para la respectiva curva de calibración se detallan en la tabla 2.2 (Apéndice B). El tiempo de incubación en oscuridad fue de 60 minutos. La medición de la absorbancia se realizó a 765 nm. Los resultados obtenidos se expresan como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra ( $\text{mg EAG g}^{-1}$ )

### **2.2.7 Actividad antioxidante DPPH**

Según la metodología establecida por Viteri y otros (2021), se midió la actividad antioxidante por medio de DPPH pasado 30 minutos de incubación en oscuridad, a una longitud de onda de 517 nm. Se preparó solución DPPH a 156  $\mu\text{M}$  y solución Trolox al 3% o a 1000  $\mu\text{M}$ . Cabe mencionar que dicho protocolo es el actualmente utilizado dentro del laboratorio de Bioproductos y

bioprocesos, sin embargo, hasta finalizar este estudio no estaba registrado con un código como tal.

Se considera los puntos (tabla 2.3, apéndice A) para la curva de calibración.

Los resultados se expresan en mg equivalente a Trolox/g extracto.

### **2.2.8 Contenido total de flavonoides**

El protocolo que se utilizó para la cuantificación de flavonoides totales fue el descrito por Avramoca y otros (2017), el cual por medio de un tampón que contenía cloruro de aluminio al 10% y acetato de potasio a 1 M se hizo reaccionar los extractos preparados previamente. El tiempo de incubación a temperatura ambiente en oscuridad fue de 30 minutos, la absorbancia fue medida a 415 nm. El estándar utilizado fue la quercetina. Los resultados obtenidos se muestran como microgramos equivalentes de catequina/g extracto.

### **2.2.9 Elaboración de productos finales**

Para el presente trabajo se elaboró dos productos, mismos que fueron evaluados en plántulas de banano frente a un producto comercial, el cual fue considerado como control.

El protocolo que se siguió para la elaboración del primer producto denominado “solución madre”, el cual se deriva de la *Azolla sp*, *K. alvarezii*, tusa de maíz y cascarilla de cacao, será registrado como secreto comercial.

Para el segundo producto, el cual se denominó “Solución Ulva”, debido a su principal componente, se lo elaboró de acuerdo con el protocolo registrado como secreto comercial PI-CIBE-005.

El producto que se usó como control, se lo preparó de acuerdo con las indicaciones mencionadas en su respectivo envase, 5ml de producto por cada litro de agua.

Una vez listo los productos, se procedió a medir el pH de cada uno de ellos, con el fin de garantizar que cumplan los estándares requeridos para

bioinsumos agrícolas (valores entre 5.5 y 6.0) (Fernández , Sotiropoulos, & Brown, 2015), y almacenarlos a una temperatura de 4°C.

### **2.2.10 Evaluación del efecto de la aplicación de los dos productos elaborados a plántulas de banano variedad Williams a nivel invernadero**

Cada tratamiento para evaluarse consta de 45 plántulas, provenientes del laboratorio de cultivo de tejidos del Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE) de la ESPOL, mismas que fueron colocadas en bandejas germinadoras de plantas y mantenidas a una temperatura de entre 26 a 27°C.

#### **Caracterización del sustrato**

El sustrato usado fue turba BM 2, el cual está compuesto de musgo turba de grano profesional seleccionado y de excelente calidad, perlita de grano grueso, vermiculita de grano grueso, humectante no iónico, carga inicial especialmente diseñada con fertilizante de liberación controlada (Agriexpo, 2022).

#### **Contenido de clorofila**

Se determinó el contenido de clorofila en unidades CCI con un clorofilómetro Opti-Sciences CCM-200 plus, realizando una lectura en la hoja más grande de cada plántula en el día 0, 10, 20, 30 (Barragán Lucas A. D., 2020), esto con el objetivo de llevar un control de como el contenido de clorofila se iba comportando con cada uno de los productos.

#### **Altura de plantas y tamaño de raíces**

Entre las variables consideradas a medir previo la aplicación de los productos elaborados y el control, estaba la altura de la planta y el tamaño de raíces. Las mediciones de altura se realizaron al iniciar el ensayo y al día 30 con apoyo de un calibrador Vernier, midiendo la planta desde la base hasta el punto más alto (KrosAgro, 2021); llevando así un control previo a resultados finales, de 1 modo

que, se podría ir concluyendo cual producto genera efectos positivos a las plántulas.

Para obtener un promedio en cuanto al tamaño de raíces se tomó muestras del día 0 y el día 30, las respectivas medidas se tomaron con ayuda de un calibrador de Vernier, datos que luego fueron analizados para obtener la tasa de crecimiento (KrosAgro, 2021).

### **Capacidad antioxidante y polifenoles en plántulas**

Fue necesario tomar muestras de cada tratamiento, para a partir de este, medir la capacidad antioxidante y cantidad de polifenoles que posee la planta antes de la aplicación del producto (López M. & Espinoza M., 1995; Marín Velázquez, 2020).

Esta medición se realizó a partir de un extracto metanólico obtenido de las plantas, mismo que se elaboró de acuerdo con la metodología estipulada por Viteri y otros (2021).

Llegado el día 30 se vuelve a tomar muestras de cada tratamiento, para la medición de actividad antioxidante y cantidad de polifenoles.

### **Aplicación de productos**

La aplicación de los productos es de forma foliar, aproximadamente 50 ml. Esta aplicación se la hace 1 vez por semana, a excepción del producto control, el cual la empresa productora recomienda una aplicación cada 4 semanas (Barragán Lucas, Van Den Hende, Sánchez - Timm, Astudillo Ochoa, & Manzano Santana, 2020; AGRIPAC, 2021).

#### **2.2.11 Análisis estadístico**

Para el respectivo análisis estadístico se utilizó el software R i386 4.1.2. Considerando un diseño experimental completamente al azar, de 3 tratamientos, conformados de 40 unidades experimentales. Evaluando la distribución normal de datos a través de la prueba Shapiro-Wilk y análisis de varianza por medio de prueba Tukey. Para determinar homogeneidad de varianza se hizo por medio de la prueba ANOVA y en caso de que falle la

homogeneidad se usó la prueba Welch F-test., debido a que se consideró trabajar con la diferencia que se generó de los resultados de las variables entre el día 0 y el día 30.

### **2.2.12 Determinación de % de mortalidad y supervivencia**

Para calcular la mortalidad se utilizó el modelo logarítmico (Lieberman & Lieberman, 1987; Sheil, Burslem, & Alder, 1995; Condit, y otros, 1999; Hoshino, Nishimura, & Yamamoto, 2002; Marin Castro, Nygard, Gonzales Rivas, & Oden, 2005), considerando un período de 30 días, aplicando la ecuación 3.1

$$m = \frac{\ln N_o - \ln N_f}{t} \quad (3.1)$$

m= mortalidad, expresada en %

ln= Logaritmo natural

No= Número de ejemplares al inicio del estudio

Nf= Número de ejemplares sobrevivientes al final del estudio

t= Período que dura el ensayo

Para el porcentaje de supervivencia se realizó una relación porcentual entre plantas al inicio y plantas vivas encontradas al momento de toma de datos (Aguirre Mendoza, Gaona Ochoa, & Carrión González, 2019).

# CAPÍTULO 3

## 3 RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 3.1 Caracterización química de bioestimulantes

Una vez elaborado los productos y con el fin de definir algunas de las propiedades que estos pueden ofrecer, se midió la actividad antioxidante DPPH, así como la cantidad total de polifenoles y flavonoides.

Para corroborar que los bioestimulantes sean apropiados para una aplicación foliar en plántulas fue necesario medir el pH de cada uno de ellos, por lo que al producto denominado solución madre, se le registró un valor de pH que estaba entre 5 y 6, valores que entran en el rango permitido para productos de esta índole (5.0 a 6.5) según lo recomendado por Fernández y otros (2015), mientras que el producto denominado “solución Ulva” posee un pH de 6 y el producto comercial alcanza un valor de 7.

El contenido de polifenoles obtenidos de la cascarilla de cacao fue de  $162.0 \pm 4.67$  mg GAEq/g, valor que supera a los descritos por Manzano y otros (2017)  $6.04 \pm 0.12$  mg GAE/g y Castro y otros (2016) quienes reportaron un valor de  $5.39 \pm 0.26$  g GAE/100 g.

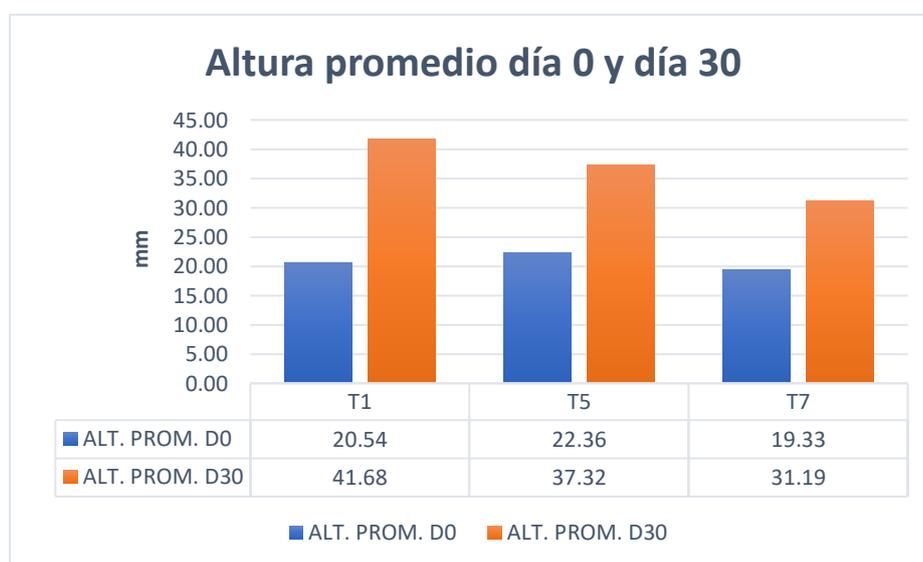
El contenido de polifenoles y flavonoides, junto con la capacidad antioxidante de las tres soluciones se resumen en la tabla 3.1, la solución ulva a pesar de ser una solución que contiene extracto de ulva solo en un 10%, supera en TPC al valor reportado por CAF y otros (2015)  $1.52 \pm 0.29$  y al de Pangestuti y otros (2021)  $9.82 \pm 0.32$  GAE mg/g, ambos trabajos indicaron que el solvente utilizado también había sido agua. Para el DPPH se obtuvo un valor un poco mayor que el reportado por Abd El-Baky (2008)  $18.70 \mu\text{g/ml}$ , y cercano al registrado por Khairy y otros (2015)  $19.8 \mu\text{g/ml}$ . Finalmente, el TFC de nuestra solución supera al registrado por Pangestuti y otros (2021)  $6.5 \pm 0.47$  QE mg/g.

**Tabla 3.1.- Valores de DPPH, polifenoles y flavonoides de "Solución madre", "Solución Ulva" y "Solución comercial".**

Solución	DPPH ( $\mu\text{mol Trolox/g}$ )	Contenido polifenoles (mg EAG/g)	Flavonoides (mg QEq/g)
Solución madre	477.33 $\pm$ 25.98	737.89 $\pm$ 10.64	236.78 $\pm$ 79.65
Solución Ulva 10%	20.34 $\pm$ 7.5	102.44 $\pm$ 1.47	19.34 $\pm$ 2.68
Solución comercial	18.38 $\pm$ 9.0	227.04 $\pm$ 1.16	31.44 $\pm$ 3.92

### 3.2 Evaluación de bioestimulantes en plántulas

#### 3.2.1 Altura de plántulas



**Figura 3.1.- Altura promedio plántulas día 0 y día 30**

Como es posible observar en la figura 3.1, llegado el día 30 se observó una notoria diferencia de altura de plántulas, siendo las correspondientes al tratamiento 1 o solución madre las que destacaron alcanzando una altura promedio de 41.68 mm, las plántulas de este tratamiento tuvieron una tasa de crecimiento de 70.22%, diferenciando en un 34.80% y 37.94% a la solución ulva y la solución control, mismas que tuvieron tasas de crecimiento de 49.40% y 47.82%

respectivamente. En la tabla 3.2 se observa el diferencial promedio de las alturas, mismas que poseen diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ,  $n=40$ ) el cual fue determinado por medio del análisis de varianza y prueba Tukey para clasificar a los respectivos grupos homogéneos con un nivel de significancia de 0.95. Para una fase de aclimatación Mora y otros (2021) en su estudio de la aplicación de *Trichoderma ghanense*, micorrizas arbusculares y un biofertilizante a plántulas de la misma variedad del presente trabajo, reportaron un incremento de hasta 29.6% de altura del mejor tratamiento. Ewane y otros (2019) en su evaluación del efecto del polvo de conchas de almejas al 1% sobre plántulas PIF de plátano en condición de vivero, obtuvieron un crecimiento de hasta un 32% más alto que las plántulas correspondientes al control.

**Tabla 3.2.- Diferencial promedio de alturas de plántulas por cada solución.**

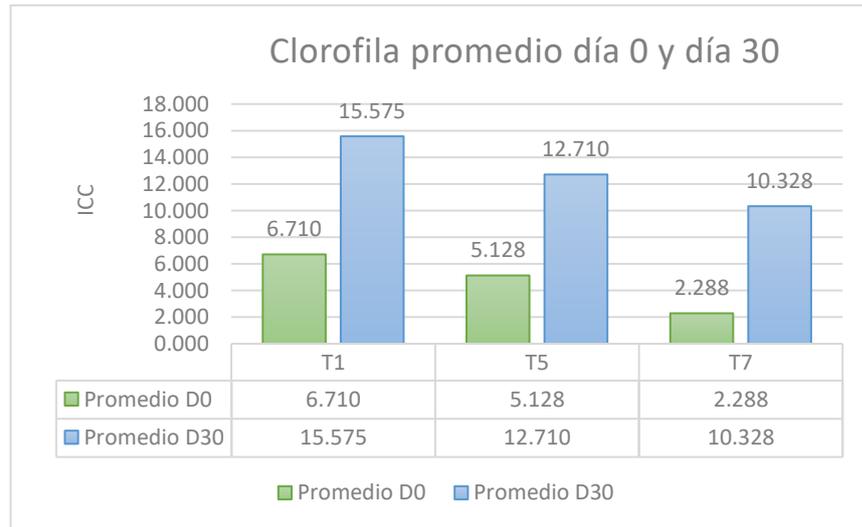
TRATAMIENTO	PROMEDIO	SD	VALOR FINAL	% crecimiento
Solución madre	21.91	12.31	21.91 ± 12.31 <sup>a</sup>	70.22
Solución ulva	15.10	8.03	15.10 ± 8.03 <sup>b</sup>	49.40
Solución comercial	10.97	6.13	10.97 ± 6.14 <sup>b</sup>	47.82

### 3.2.2 Índice de contenido de clorofila

La gráfica 3.2 resume lo sucedido durante 30 días en la clorofila, donde evidentemente se observa un incremento de esta hasta el final del estudio, el apéndice \_ muestra esta variante más a detalle. De acuerdo con la tabla 3.3, el tratamiento en el cual se aplicó la solución madre aumentó hasta en un 29.55% el índice de clorofila.

**Tabla 3.3.- Diferencial promedio de contenido de clorofila día 0 y día 30.**

TRATAMIENTO	PROMEDIO	SD	VALOR FINAL	% aumento clorofila
Solución madre	10.82	2.78	10.82 ± 2.78 <sup>c</sup>	29.55%
Solución ulva	9.25	2.80	9.25 ± 2.80 <sup>b</sup>	25.28%
Solución comercial	5.76	2.41	5.76 ± 2.41 <sup>a</sup>	26.80%



**Figura 3.2.- Índice de clorofila promedio día 0 y día 30.**

### 3.2.3 Tamaño de raíces

Completado el día 30 de esta fase del ensayo, se obtuvieron medidas promedio de las raíces de cada tratamiento, resultando las raíces del tratamiento con solución madre los que registraron mayor crecimiento, la gráfica 3.3 muestra el comportamiento de las raíces frente al día 0 y al día 30. Para el primer tratamiento se obtuvo un promedio de  $6.40 \pm 2.45$  cm valor, mientras que para el segundo tratamiento un promedio de  $5.75 \pm 1.62$  cm y finalmente para el tratamiento comercial se registró un promedio de  $4.77 \pm 1.43$  cm, el valor del primer tratamiento difiere en un 34.17% del comercial y en un 11.30% de la solución ulva.

En el ensayo de Cedeño y otros (2021), quienes usaron un producto hecho a base de extracto de algas marinas noruegas *Ascophyllum nodosum*, frente a otro que tenía compuestos químicos, los resultados de la longitud de biomasa radicular fueron mayores en el tratamiento usado con extracto de algas obteniendo un valor de 37.04 cm, el cual representaba hasta un 12.82% mayor al tratamiento con insumo químico.

Barragán Lucas (2020) en su trabajo indica no haber afectación positiva de las distintas concentraciones de extracto de alga *Kappaphycus alvarezii* sobre el largo de raíces, sin embargo, ostenta el incremento que hubo en raíces

ramificadas, comportamiento que se le atribuye a la absorción de nutrientes (Khan, y otros, 2009).

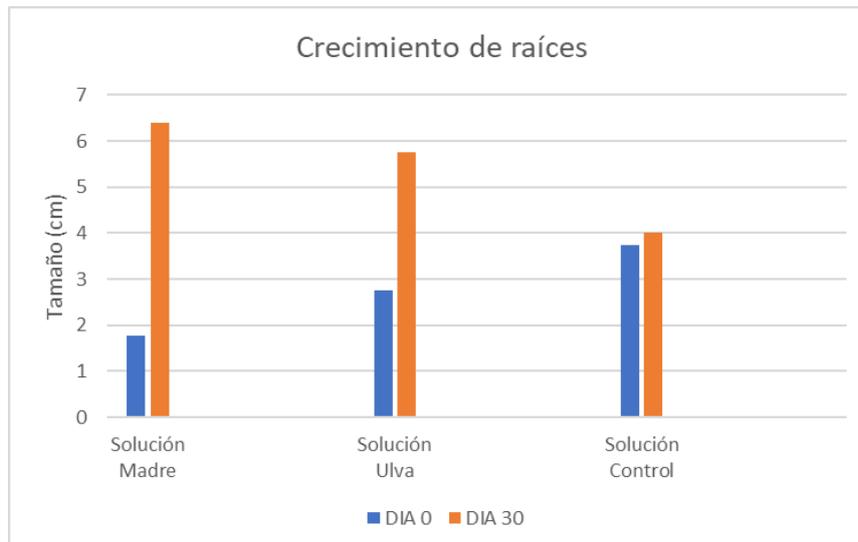


Figura 3.3.- Crecimiento promedio de raíces día 0 y día 30.

### 3.2.4 Capacidad antioxidante DPPH y flavonoides en plántulas

En la tabla 3.4 resume los resultados conseguidos de los ensayos realizados a los extractos de cada uno de los tratamientos en los distintos días, siendo menor al resultado obtenidos de Hernández Uribe (2018), quien reportó  $3.41 \pm 0.53$  mM/mg del extracto etanoico de hojas de *Musa cavendishii* Lamb. Por otra parte, Jaime Carvajal y Contreras Eras (2019), en su estudio de la relación entre la concentración de flavonoides y el empleo de biofertilizantes en banano *Musa paradisiaca* L. plantados en invernadero, reportaron a los 60 días un incremento de flavonoides totales hasta de  $11.63 \pm 0.5$  mg EC/g, considerando como estándar la catequina.

Usando como estándar Trolox para la medición de la capacidad antioxidante DPPH, Marín Velázquez (2020) en su análisis de extractos acuosos de *Musa acuminata* Cavendish obtuvo un IC50 de 81.95  $\mu$ g/ml y polifenoles totales de 5.7811  $\mu$ GAE/g de extracto, concluyendo que el extracto liofilizado de *Musa Cavendish* tiene polifenoles, pero una templada actividad antioxidante.

**Tabla 3.4.- Valores capacidad antioxidante DPPH y flavonoides de plántulas día 0 y día 30.**

Tratamiento	Día	DPPH ( $\mu\text{mol Trolox/g}$ )	Flavonoides ( $\mu\text{g QEq/g}$ )
Solución madre	Día 0	105.85 $\pm$ 0.91	23054.06 $\pm$ 22.93
Solución madre	Día 30	182.79 $\pm$ 0.24	29722.85 $\pm$ 5.67
Solución Ulva 10%	Día 0	51.50 $\pm$ 10.00	11813.40 $\pm$ 2.68
Solución Ulva 10%	Día 30	152.61 $\pm$ 0.09	14076.00 $\pm$ 14.23
Solución comercial	Día 0	44.02 $\pm$ 5.94	5737.04 $\pm$ 8.61
Solución comercial	Día 30	164.08 $\pm$ 0.90	15315.26 $\pm$ 15.20

### 3.3 Tasa de mortalidad y supervivencia de plántulas a los 30 días.

La tabla 3.5 muestra que las plántulas a las cuales se les colocó la solución comercial al llegar al día 30 presentaron mortalidad del 3.51%, mientras que las plántulas que fueron expuestas a la solución ulva mostraron 0% de mortalidad y 100% supervivencia, en el caso del tratamiento con solución madre, solo se registró deceso de un ejemplar, por lo que el porcentaje de mortalidad fue de 0.844.

**Tabla 3.5.- Mortalidad y supervivencia de plántulas expuestas a distintos tratamientos durante 30 días.**

Tratamiento	Individuos al inicio	Individuos al final	% supervivencia	% mortalidad
Solución madre	40	39	97.5	0.84
Solución Ulva	40	40	100	0
Solución comercial	40	36	90	3.51

### **3.4 Bioinsumo orgánico que contenga además de fitohormonas, polifenoles.**

La elaboración y producción de insumos agrícolas a partir de fuentes naturales, especialmente algas, ya viene realizándose hace muchos años atrás, un ejemplo en el mercado agrícola ecuatoriano es el producto Kelpak de la empresa Agripac, el cual tiene como componente activo extracto de alga marina *Ecklonia máxima* en un 34.26%, la cual equivale en actividad biológica a 11.0 ppm de auxinas, 0.03 ppm de citoquininas, 4.0 ppm de poliaminas y 0.95 ppm de phlorotaninns (Agripac, 2021). Los estudios de nuevos bioproductos hechos a base algas marinas en el país cada vez se incrementan con el fin de potenciar la actividad de maricultura en los distintos poblados del Litoral donde el cultivo de algas ha empezado a ser una fuente de ingresos económicos, trabajos como el de Barragán y otros (2020) usando extracto acuoso de *kappaphycus alvarezii*, en la germinación de semillas de arroz, se obtuvo un mejoramiento significativo en el crecimiento de brotes de semillas, además de un incremento de raíces ramificadas, en el rendimiento del grano, además del contenido de nutrientes.

Cedeño García (2021) quienes evaluaron la efectividad de un bioestimulante hecho a base de *Ascophyllum nodosum*, en conjunto con un producto de fertilización química en plántulas de banano en fase vivero, obteniendo que el tratamiento correspondiente al bioestimulante + fertilización química incrementó hasta en un 14.80% el área foliar, en un 11.22% la masa seca y en un 7.56% el índice de calidad de Dickson.

En su investigación del efecto del extracto de *Azolla* sobre *Pisum Sativum*, Bindhu (2013) reportó que el extracto a una concentración de 20% era capaz de promover el crecimiento de plántulas en términos de largo de brotes, longitud de raíces, peso fresco y seco.

Sin embargo, de todos los estudios revisados existe una deficiencia de aquellos que mencionen polifenoles en aplicaciones agrícolas, uno de los pocos encontrados fue el de Leyton y Vaisman (2021), las cuales elaboraron un extracto de hojas de bayas, el mismo que no solo posee polifenoles 8,41 g/L, flavonas y flavonoles, sino también nutrientes y micronutrientes. Como resultado se obtiene un incremento de peso fresco, peso seco, materia seca, clorofila hasta un 130% mayor que usando

Ascophyllum nodosum, y rendimiento de cultivos hasta en un 17%, además al tratar frutas con dicho producto, estas mostraron un menor daño por insolación o exceso de sol.

Con todo lo anteriormente expuesto, el presente proyecto en primer lugar es viablemente económicamente partiendo desde la recolección de materia prima, debido a que lo único que se deberá cubrir son gastos de movilización, gracias a los proveedores que se contactó previamente para solicitar las distintas biomásas marinas y residuales, ya que, si consideramos adquirir en forma de compra/venta cada una de las materias primas, los gastos económicos serían mayores. Luego está la fase de elaboración de productos, dado que no se requiere de químicos difíciles de encontrar en el mercado, haciendo que esta sea factible.

Una evaluación de los productos en plantas en una fase más desarrollada y expuestos a otro tipo de ambiente, el cual se asemeje a campo natural de plantaciones ya sea de banano u otro tipo de cultivo, permitirá reiterar los resultados obtenidos en el presente estudio y con ello garantizar que el producto nuevo que se quiera ofertar al mercado agrícola ecuatoriano no ha perdido las propiedades que se le atribuyeron con los primeros resultados obtenidos.

Hace 10 años en Ecuador la agricultura orgánica ha ido creciendo (Agrocalidad, 2022), por lo que la aplicación de un producto de este tipo, podría ayudar a mejorar el rendimiento de cultivos sin perder la característica de orgánico, además de beneficiar económicamente a ambas partes, por un lado se ayuda a agilizar ventas dentro de pequeños o grandes productores y por el otro lado, dado que no es un producto que requiera grandes procesos industriales en su elaboración, los gastos de producción son relativamente bajos, por lo que al hacer un coste de un valor aproximado de venta al pública este no debería ser alto, en comparación a otros productos comerciales de la misma gama.

# CAPÍTULO 4

## 4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4.1 Conclusiones

Luego de los respectivos análisis a las pruebas realizadas tanto fisicoquímicas a productos y plántulas, así como datos obtenidos de la evaluación a las plántulas durante los 30 días con la aplicación de los 2 bioestimulantes orgánicos y uno comercial, se tuvo las siguientes conclusiones:

- La caracterización química realizada tanto a SM como a SU, demostró que la primera solución presentaba los valores más altos en cuanto a capacidad antioxidante, como contenido total de polifenoles y flavonoides, por lo que previo a la aplicación de esta solución a las plántulas ya se esperaba que este tratamiento evolucione de mejor forma que los otros dos, debido al alto contenido de polifenoles en esta solución los cuales se le atribuyen a los polifenoles otorgados por la cascarilla de cacao; fueron las variables físicas y las pruebas estadísticas quienes confirmaron nuestro primer supuesto.
- Con respecto al primer objetivo específico, los distintos métodos de extracción seleccionados garantizan una reducción de costos en la fase de elaboración, debido a la casi nula presencia de reactivos químicos en cada uno de los procesos aplicados.
- Debido a la limitación con el tiempo en el cual el proyecto fue ejecutado, no fue posible completar al 100% el tercer objetivo específico, especialmente la sección de caracterización por medio de métodos electroforéticos, dado que la parte de métodos espectroscópicos ocupó parte de tiempo, debido a que las muestras analizadas ciertas veces no entraban en la curva, por lo que fue necesario diluirlas o concentrarlas, dependiendo la situación.
- Las fitohormonas presentes en el extracto de *Kappaphycus alvarezii* como el ácido indolacético y ácido giberélico, combinadas con la trans zeatina de la tusa de maíz, polifenoles de la cascarilla de cacao y los distintos nutrientes que posee la *Azolla sp.*, hacen de la solución madre un compuesto que además de promover el crecimiento de plántulas, se promueve también en crecimiento radicular, logrando incrementar la capacidad antioxidante en

plantas protegiéndolas de los efectos negativos que causan los radicales libres de modo que se garantiza un mejor rendimiento de cultivos debido a la baja tasa de mortalidad que ocasiona en cultivos en relación a un producto comercial.

#### **4.2 Recomendaciones**

Como recomendaciones a futuro siguiendo la línea de la presente investigación tenemos:

- Debido a que de los dos insumos orgánicos se obtuvo buenos resultados en comparación al producto comercial, además de las diferencias significativas, se recomendaría por medio de una cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG - EM) identificar aquellos compuestos bioactivos presentes en ambas soluciones.
- Evaluar los efectos en plántulas a diferentes concentraciones de las soluciones preparadas con el fin de optimizar el rendimiento a gran escala de estos insumos.
- Considerando el punto anterior, realizar un tamiz de los biorproductos con los mejores resultados, de modo que sean estimados para un nuevo ensayo en el cual las condiciones del ambiente no sean controladas (pasar de etapa invernadero a vivero).
- Incluir un estudio in vivo de cada uno de los tratamientos, con el objetivo de analizar el comportamiento de tanto los tejidos como células de las plántulas frente a cada uno de los bioproductos
- Repetir el ensayo considerando como control un tratamiento con agua y como testigo un producto comercial, el cual puede ser el mismo u otro de los existentes el mercado.

# BIBLIOGRAFÍA

- Abd El-Baky, H., El Baz, F., & Baroty, G. (2008). Evaluation of Marine Alga *Ulva lactuca* L. as A Source of Natural Preservative Ingredient. American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 3 (3): 434-444 [https://www.idosi.org/aejaes/jaes3\(3\)/21.pdf](https://www.idosi.org/aejaes/jaes3(3)/21.pdf).
- Agriexpo. (2022). Sustrato turba BM 2 Berger. Virtual Expo Group, <https://www.agriexpo.online/es/prod/berger/product-178114-57421.html>.
- AGRIPAC. (2021). EVERGREEN. FICHA TECNICA - AGRIPAC, <https://agripac.com.ec/productos/evergreen/>.
- Agripac. (2021). Kelpak, ficha técnica. Agripac S.A., <https://agripac.com.ec/productos/kelpak/>.
- AgriZone. (2022). EVERGREEN - BIOESTIMULANTE. FICHA TECNICA PRODUCTOS - AGRIZON, <https://www.e-agriZone.com/producto/evergreen-20-lt-fertilizante-foliar-de-solucion-vegetal/>.
- Agrocalidad. (2022). Boletín Informativo Producción orgánica 2020 - 2021. Agencia de Regulación y Control Fito y Zoonosanitario, <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2022/01/produccion%CC%81n-orga%CC%81nica-2020-2021.pdf>.
- AGROCALIDAD, A. d. (2021). Boletín informativo: Informe técnico de exportación de cacao. AGROCALIDAD, <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2022/02/Informe-cacao.pdf>.
- Aguirre Mendoza, Z., Gaona Ochoa, T., & Carrión González, J. (2019). Survival, mortality and growth of three forest species planted in Andean scrubland in southern Ecuador. Revista Cubana de Ciencias Naturales, Vol 7(3), [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2310-34692019000300325](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2310-34692019000300325).
- Albán Cárdenas, E. (2014). EVALUACION DE LA EFICACIA DE CITOQUININA (CYTOKIN) Y UN INDUCTOR CARBÓNICO (CARBOROOT) EN TRES DOSIS Y EN DOS ÉPOCAS EN EL RENDIMIENTO DE BANANO DE EXPORTACIÓN, EN UNA PLANTACIÓN EN PRODUCCIÓN VARIEDAD GRAN ENANA, CANTÓN QUININDE DE LA PROV. DE ESMERALDAS. Trabajo de titulación - Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), <http://dSPACE.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3297/1/13T0778%20.pdf>.
- Alcántara Cortés, J., Acero Godoy, J., Alcántara Cortés, J., & Sánchez Mora, R. (2019). Main hormonal regulators and their interactions in plant growth. Nova, <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-109.pdf>.
- Aldás Jarrín, J., Zurita Vásquez, J., Cruz Tobar, S., Villacís Aldáz, L., Pomboza Tamaquiza, P., & León Gordón, O. (2016). Fertilizer effect Azolla - Anabaena in

- maize (*Zea mays* L.). Journal of the Selva Andina Biosphere, [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2308-38592016000200008](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2308-38592016000200008).
- Alvarado Díaz, E. E. (2017). EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA DE *Azolla filiculoides* (helecho acuático) EN FUNCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN Y TIPO DE FERTILIZANTE, EN CONDICIONES DE LABORATORIO, CENTRO DE BIOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR. Trabajo de titulación - Universidad Central del Ecuador, <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/12941/1/T-UCE-0016-010.pdf>.
- Atteya , A., Albalawi, A. N., Alarmi, E. S., Bayomy, H., & Genaidy, E. A. (2022). Response of Growth, Yield, and Phytochemical Behavior of Jojoba Genotypes to *Azolla filiculoides* Plant Extract. *Plants*, <https://doi.org/10.3390/plants11101314>.
- Avramova, V., AbdElgawad, H., Vasileva, I., Petrova, A., Holek, A., Marien, J., . . . Beemster, G. (2017). High Antioxidant Activity Facilitates Maintenance of Cell Division in Leaves of Drought Tolerant Maize Hybrids. *Frontiers in Plant Science*, <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00084>.
- Awodun, M. (2008). Effect of *Azolla* (*Azolla species*) on Physiochemical Properties of the Soil. *World Journal of Agricultural Sciences*, [https://www.idosi.org/wjas/wjas4\(2\)/6.pdf](https://www.idosi.org/wjas/wjas4(2)/6.pdf).
- Badgujar, C., Pujari , C., & Patil , N. (2009). Evaluation of banana cultivars under different fertilizer regimes. *Asian Journal of Horticulture*, Vol. 4, 2, 332-335. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20133289032>.
- Barazarte, H., Sangronis, E., & Unai, E. (2008). La cáscara de cacao (*Theobroma cacao* L.): Una posible fuente comercial de pectinas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222008000100009](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222008000100009).
- Barragán Lucas, A. D. (2020). Evaluación del potencial agrícola del extracto de *Kappaphycus alvarezii*. Trabajo de titulación - Escuela Superior Politécnica del Litoral, No Publicado.
- Barragán Lucas, A., Van Den Hende, S., Sánchez - Timm, E., Astudillo Ochoa, S., & Manzano Santana, P. (2020). APLICACIÓN DEL EXTRACTO DE *Kappaphycus alvarezii* SOBRE PLANTAS DE ARROZ EN CONDICIONES NORMALES Y SALINAS. Libro de Memorias CIBB 2020, <http://www.cibb.espol.edu.ec/sites/cibb.espol.edu.ec/files/LIBRO%20DE%20MEMORIAS%20CIBB2020.pdf>.
- Bindhu, K. (2013). Effect of *Azolla* extract on growth performance of *Pisum sativum*. *International Research Journal of Biological Sciences*, <http://www.isca.in/IJBS/Archive/v2/i10/14.ISCA-IRJBS-2013-152.pdf>.

- Blainski , A., Cristiny Lopes, G., & Palazzo de Mello, J. (2013). Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense L.* *Molecules*, 18(6): 6852–6865.  
<https://doi.org/10.3390%2Fmolecules18066852>.
- Brand Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology*,  
[https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- CAF, F., Yilmaz, O., Durucan, F., & Ozdemir, N. (2015). Biochemical components of three marine macroalgae (*Padina pavonica*, *Ulva lactuca* and *Taonia atomaria*) from the levantine sea coast of antalya, Turkey. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)*, Vol 6, 401-411  
[https://www.researchgate.net/publication/275770974\\_Biochemical\\_components\\_of\\_three\\_marine\\_macroalgae\\_Padina\\_pavonica\\_Ulva\\_lactuca\\_and\\_Taonia\\_ato\\_maria\\_from\\_the\\_levantine\\_sea\\_coast\\_of\\_antalya\\_Turkey](https://www.researchgate.net/publication/275770974_Biochemical_components_of_three_marine_macroalgae_Padina_pavonica_Ulva_lactuca_and_Taonia_ato_maria_from_the_levantine_sea_coast_of_antalya_Turkey).
- Calvo Velez, P., Nelson, L., & Kloepper, J. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*, <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-014-2131-8>.
- Casanova Venegas, E. (2012). Quantification of total flavonoids and tannins present in the aqueous extract of leaves of *Thea sinensis L.* and its antioxidant capacity. *UCV- Scientia* , 4(2), 161-174  
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4369412>.
- Cassesus, J. D., Ambriz Pérez, D. L., & Santos Ballardo, D. U. (2021). Biogas: el paso de los residuos agroindustriales a energía. *Elements*,  
[https://www.researchgate.net/publication/361115879\\_Biogas\\_el\\_paso\\_de\\_los\\_re\\_sidos\\_agroindustriales\\_a\\_energia](https://www.researchgate.net/publication/361115879_Biogas_el_paso_de_los_re_sidos_agroindustriales_a_energia).
- Castro , M., Hernández, J., Marcilla, S., Córdova , J., Solari, F., & Chire, G. (2016). EFECTO DEL CONTENIDO DE GRASA EN LA CONCENTRACIÓN DE POLIFENOLES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE *Theobroma cacao L.* "CACAO". *Ciencia e Investigación* , <https://doi.org/10.15381/ci.v19i1.13623>.
- Castro Alvarez, R., Rodríguez Pulido , M., Álvarez Morales , G. E., Gil Pérez , M., Novo Sordo, R., Castro Maridueña, R., & Díaz Solís, S. H. (2007). Effect of incorporation of Azolla green abono in the reduction of phytonematodes affection in organoponic gardens crops. *Centro Agrícola*,  
[http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/V34-Numero\\_2/cag072071540.pdf](http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/V34-Numero_2/cag072071540.pdf).
- Castro González , M., Pérez Gil-Romo, F., Pérez Estrella , S., & Carrillo Domínguez, S. (1996). CHEMICAL COMPOSITION OF THE GREEN ALGA *Ulva lactuca*. *Ciencias Marinas*, <http://dx.doi.org/10.7773/cm.v22i2.853>.
- Cedeño Franco, M. J. (2017). DETERMINACIÓN DE LOS COSTOS DEL USO DE NEMATICIDAS EN EL CULTIVO DE BANANO EN LA HACIENDA ADRIANA CAROLINNA, DELCANTON VALENCIA, PROVINCIA DE LOS RIOS. Trabajo de

- titulación- Universidad Técnica Estatal de Quevedo,  
<https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/3351/1/T-UTEQ-0045.pdf>.
- Cedeño García, G., Velázquez Cedeño, S., Avellán Cedeño, B., Cargua Chávez, J., & López Álava, G. (2021). BIOSTIMULANT IN THE GROWTH AND QUALITY OF BANANA SEEDLINGS IN THE NURSERY PHASE. ESPAM CIENCIA para el agro, [https://doi.org/10.51260/revista\\_espamciencia.v12i2.274](https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v12i2.274).
- Chóez Guaranda, I. A. (2012). Aislamiento y cuantificación de trans zeatina en bioinsumos mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), utilizando como patrón desechos de maíz (*Zea mays*). ESPOL - TESIS DE GRADO, <http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/handle/123456789/44037>.
- Chong, M. C. (1998). The Discovery of Cytokinins. Discoveries in Plant Biology, [https://doi.org/10.1142/9789812817563\\_0001](https://doi.org/10.1142/9789812817563_0001).
- Colebrook , E., Thomas , S., Phillips , A., & Hedden, P. (2014). The role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress. J. Exp. Biol, <http://jeb.biologists.org/cgi/doi/10.1242/jeb.089938>.
- Colla, G., & Rouphael, Y. (2020). Biostimulants in Agriculture. Frontiers in Plant Science, <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00040>.
- Condit, R., Ashton, P. S., Manokaran , N., LaFrankie, J., Hubbell, S., & Foster, R. (1999). Dynamics of the forest communities at Pasoh and Barro Colorado: comparing two 50–ha plots. Biological Sciences, <https://doi.org/10.1098/rstb.1999.0517>.
- Córdoba , J., Salcedo , E., Rodríguez, R., Zamora, J., Manríquez , R., Contreras, H., . . . Delgado, E. (2013). Caracterización y valoración química del olote: degradación hidrotérmica bajo condiciones subcríticas. Revista Iatinoamericana de química, [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0370-59432013000300004](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-59432013000300004).
- Craige, J. S. (2011). Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. Journal of Applied Phycology, doi: 10.1007/s10811-010-9560-4.
- da Cruz Suzart, L., & do Amaral Vendramini, A. (2021). Aplicaciones biotecnológicas de macroalga *K. alvarezii*: Un estudio prospectivo. Cuadernos de prospección, <http://dx.doi.org/10.9771/cp.v14i4.42328>.
- Delgado Vargas , F., Sicarios Medina , L., Luna Mandujan, A., López Angulo , G., Salazar Salas, N., Vega García , M., López Valenzuela, J. (2018). Phenolic profiles, antioxidant and antimutagenic activities of *Solanum lycopersicum var. cerasiforme* accessions from Mexico. Journal of Food, <https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1481146>.
- Delgado, C., Navarrete, J., Nole, P., & Hernández , N. (2020). Energy and bioeconomic characterization of briquettes made with residual biomass from corn culture in

- Ecuador. Redieluz,  
<https://produccioncientificaluz.org/index.php/redieluz/article/view/35521/37673>.
- du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>.
- El Boukhari, M. E., Barakate, M., Bouhia, Y., & Lyamlouli, K. (2020). Trends in Seaweed Extract Based Biostimulants: Manufacturing Process and Beneficial Effect on Soil-Plant Systems. *Plants*, <http://dx.doi.org/10.3390/plants9030359>.
- Espinoza Antón, A. A., Hernández Herrera, R. M., & González González, M. (2020). Extractos bioactivos de algas marinas como bioestimulantes del crecimiento y la protección de las plantas. *Biotecnología Vegetal*, [https://www.researchgate.net/publication/353646834\\_Extractos\\_bioactivos\\_de\\_algas\\_marinas\\_como\\_bioestimulantes\\_del\\_crecimiento\\_y\\_la\\_proteccion\\_de\\_las\\_plantas](https://www.researchgate.net/publication/353646834_Extractos_bioactivos_de_algas_marinas_como_bioestimulantes_del_crecimiento_y_la_proteccion_de_las_plantas).
- Espinoza Chunzo, A. L. (2017). Extractos botánicos con potencial aplicación en el control de nemátodos en el cultivo de banano. Trabajo de titulación - Universidad Técnica de Machala, [http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/11345/1/DE00007\\_EXAMEN\\_COMPLEXIVO.pdf](http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/11345/1/DE00007_EXAMEN_COMPLEXIVO.pdf).
- Ewane , C., Ndongo , F., Ngula , K., Tene Tayo, P., Obol Opiyo , S., & Boudjeko, T. (2019). Potential Biostimulant Effect of Clam Shells on Growth Promotion of Plantain PIF Seedlings (var. Big Ebanga & Batard) and Relation to Black Sigatoka Disease Susceptibility. *American Journal of Plant Sciences*, vol 10, <https://doi.org/10.4236/ajps.2019.1010125>.
- Fayaz, M., Namitha, K., Murthy, K., Swamy, M., Sarada, R., Khanam, S., . . . Ravishankar, G. (2005). Chemical composition, iron bioavailability, and antioxidant activity of *Kappaphycus alvarezzi* (Doty). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, <https://dx.doi.org/10.1021/jf0493627>.
- Fernández , V., Sotiropoulos, T., & Brown, P. (2015). Fertilización Foliar Principios Científicos y Práctica de Campo. *Asociación Internacional de la Industria de Fertilizantes - IFA*, 35 - 36  
[https://www.researchgate.net/publication/283908842\\_Fertilizacion\\_Foliar\\_Principios\\_Cientificos\\_y\\_Practicas\\_de\\_Campo](https://www.researchgate.net/publication/283908842_Fertilizacion_Foliar_Principios_Cientificos_y_Practicas_de_Campo).
- Fierro, A., Draguiche, J. M., & Ramírez , T. (2006). Evaluación de nuevos híbridos y selecciones de bananos (*Musa spp.*) frente a nemátodos fitopatógenos. Centro Agrícola, <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CU2009100907>.
- Flores , V. J., & Pereira, M. d. (2008). Las citoquininas están asociadas al desarrollo floral de plantas de *Solidago x luteus* en días cortos. *Agronomía Colombiana*, <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180314732007>.

- Folin, O., & Ciocalteu, V. (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 73 (2), 627-650.  
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)84277-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)84277-6).
- Galán, V., Rangel, A., López, J., Pérez Hernández, J., Sandoval, J., & Souza, H. (2018). Banana propagation: traditional techniques. New technologies and innovations. *Revista Brasileira de Fruticultura*, <https://doi.org/10.1590/0100-29452018574>.
- Garay Arroyo, A., De la Paz Sánchez, M., García - Ponce, B., Álvarez - Buylla, E., & Gutiérrez C. (2014). La Homeostasis de las Auxinas y su Importancia en el Desarrollo de *Arabidopsis thaliana*. *Revista de Educación Bioquímica*, [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1665-19952014000100003](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-19952014000100003).
- Gavilanes - Terán, I., Jara Samaniego, J., Idrovo Novillo, J., Bustamante, M. A., Pérez Murcia, M. D., Pérez Espinoza, A., . . . Paredes, C. (2017). Agroindustrial compost as a peat alternative in the horticultural industry of Ecuador. *Journal of Environmental Management*, <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.10.045>.
- González García, E., & Suárez Hernández, J. (1998). Las plantas acuáticas en un contexto de aprovechamiento sostenible de los recursos naturales. I. *Azolla* spp. *Pastos y Forrajes*, <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01190067/document>.
- Gopal, B. (1987). *Water hyacinth (Aquatic Plant Studies 1)*. Elsevier, Amsterdam. *Journal of Tropical Ecology*, <https://doi.org/10.1017/S0266467400002571>.
- Guamingo Rojas, E. A., & Loor Albán, H. A. (2020). APROVECHAMIENTO DE LOS RESIDUOS EN LA PRODUCCIÓN DE CAFÉ, CACAO, PLÁTANO Y MAIZ EN EL CANTON QUEVEDO Y SUS ZONAS DE INFLUENCIA. Trabajo de titulación - Universidad Técnica Estatal de Quevedo, <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/6114/1/T-UTEQ-094.pdf>.
- Guerrero, G., Suárez, D., & Orozco, D. (2017). Implementación de un método de extracción de pectina obtenida del subproducto agroindustrial cascarilla de cacao. *Temas Agrarios*, <https://doi.org/10.21897/rta.v22i1.919>.
- Guija Poma, E., Inocente Camones, M. A., Ponce Pardo, J., & Zarzosa Norabuena, E. (2015). Evaluación de la técnica 2,2 Difenil- 1 - Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar la capacidad antioxidante. *Horizonte Médico (Lima)*, [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1727-558X2015000100008&script=sci\\_abstract](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1727-558X2015000100008&script=sci_abstract).
- Hernández - Herrera, R., Santacruz - Ruvalcaba, F., Ruiz - López, M., Norrie, J., & Hernández - Carmona, G. (2014). Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of Applied Phycology*, <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0078-4>.

- Hernández Pereira , J. (2015). Obtención a escala laboratorio de polifenoles a partir de la cáscara de cacao y su utilidad como aditivo conservante de aceites vegetales comestibles. Trabajo de titulación - ESPOL, <https://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/38266>.
- Hernández Uribe, G. (2018). COMPOSICIÓN FENÓLICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LAS HOJAS DE *Musa cavedishii* Lamb. "PLÁTANO BIZCOCHITO". Trabajo de titulación - Universidad Nacional "San Luis Gonzaga" de Ica, <https://repositorio.unica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13028/3603/Composici%C3%B3n%20Fen%C3%B3lica%20y%20Capacidad%20Antioxidante%20del%20Extracto%20Etan%C3%B3lico%20de%20Las%20Hojas%20de%20Musa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Hoshino, D., Nishimura , N., & Yamamoto, S. (2002). Dynamics of major conifer and deciduous broad-leaved tree species in an old-growth *Chamaecyparis obtusa* forest, central Japan. *Forest Ecology and Management* 159(3): 133-144, 159(3): 133-144, DOI 10.1016/s0378-1127(00)00724-6.
- Ibrahim, W. M., Ali, R. M., Hemida, K. A., & Sayed, M. A. (2014). Role of *Ulva lactuca* Extract in Alleviation of Salinity Stress on Wheat Seedlings. *The Scientific World Journal*, <https://doi.org/10.1155/2014/847290>.
- Ibrahim, W. M., Hemida, K. A., & Sayed, M. A. (2014). Role of *Ulva lactuca* Extract in Alleviation of Salinity Stress on Wheat Seedlings. *The Scientific World Journal*, <https://doi.org/10.1155/2014/847290>.
- INEC - ESPAC, I. N. (2021). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua 2020. Ecuador en Cifras - INEC, [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/espac/espac-2020/Presentacion%20ESPAC%202020.pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2020/Presentacion%20ESPAC%202020.pdf).
- INEC - ESPAC, I. N. (2021). Módulo de Información Ambiental y Tecnificación Agropecuaria. Ecuador en Cifras, [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas\\_Ambientales/Modulo\\_Ambiental\\_ESPAC\\_2020/PRINC\\_RESUL\\_MOD\\_AGROTEC\\_2020\\_08\\_4.pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/Modulo_Ambiental_ESPAC_2020/PRINC_RESUL_MOD_AGROTEC_2020_08_4.pdf).
- INEC. (2012). Ficha técnica de agricultura - Banano fresco, variedad Williams. Sistema Integrado de Consulta de Clasificaciones y Nomenclatura (SIN), [https://aplicaciones2.ecuadorencifras.gob.ec/SIN/co\\_agricola.php?id=01312.01.03](https://aplicaciones2.ecuadorencifras.gob.ec/SIN/co_agricola.php?id=01312.01.03).
- INEC, I. N. (2015). Uso y Manejo de Agroquímicos en la Agricultura 2014. Ecuador en Cifras, [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas\\_Ambientales/plaguicidas/Plaguicidas-2014/Modulo\\_Uso\\_y\\_Manejo\\_de\\_Agroquimicos.pdf](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Encuestas_Ambientales/plaguicidas/Plaguicidas-2014/Modulo_Uso_y_Manejo_de_Agroquimicos.pdf).

- Jaime Carvajal , J., & Contreras Eras, J. G. (2019). "RELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE FLAVONOIDES Y EL EMPLEO DE BIOFERTILIZANTES EN BANANO (*Musa paradisiaca* L.) PLANTADOS EN INVERNADERO. Trabajo de titulación - Universidad de Guayaquil, <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/39946/1/BCIEQ-T-0370%20Jaime%20Carvajal%20Jairo%20Joel%3b%20Contreras%20Eras%20John%20Guillermo.pdf>.
- James Rivas, A., Ramírez , J., Cedeño, M., Villarreal, J. E., Marin Calvo, N., & Álvarez , H. (2021). AVANCES DE PROYECTO CARBONIZACIÓN DE BIOMASA| APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS AGRÍCOLAS PARA EL MEJORAMIENTO DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL SUELO EN ÁREAS DE CULTIVO. Conference: IX Simposio Iberoamericano en Ingeniería de Residuos: hacia un mundo sin residuos, [https://www.researchgate.net/publication/358676354\\_AVANCES\\_DE\\_PROYECTO\\_CARBONIZACION\\_DE\\_BIOMASA\\_APROVECHAMIENTO\\_DE\\_RESIDUOS\\_AGRICOLAS\\_PARA\\_EL\\_MEJORAMIENTO\\_DE\\_LAS\\_PROPIEDADES\\_FISICOQUIMICAS\\_DEL\\_SUELO\\_EN\\_AREAS\\_DE\\_CULTIVO](https://www.researchgate.net/publication/358676354_AVANCES_DE_PROYECTO_CARBONIZACION_DE_BIOMASA_APROVECHAMIENTO_DE_RESIDUOS_AGRICOLAS_PARA_EL_MEJORAMIENTO_DE_LAS_PROPIEDADES_FISICOQUIMICAS_DEL_SUELO_EN_AREAS_DE_CULTIVO).
- Jokic, S., Tanja , G., Knez, Z., Subaric, D., & Skerget, M. (2018). eparation of active compounds from food by-product (cocoa shell) using subcritical water extraction. *Molecules*, <https://doi.org/10.3390/molecules23061408>.
- Karthikeyan, K., & Shanmugam, M. (2014). Enhanced Yield and Quality in Some Banana Varieties Applied with Commercially Manufactured Biostimulant Aquasap from Sea Plant *Kappaphycus alvarezii*. *Journal of Agricultural Science and Technology B*, <http://dx.doi.org/10.17265/2161-6264/2014.08.004>.
- Kauffman, G., Kneivel, D., & Watschke, T. (2007). Effects of a biostimulant on the heat tolerance associated with photosynthetic capacity, membrane thermostability, and polyphenol production of perennial ryegrass. *Crop Science*, <https://doi.org/10.2135/cropsci2006.03.0171>.
- Khairy , H., & El-Sheikh , M. (2015). Antioxidant activity and mineral composition of three Mediterranean common seaweeds from Abu-Qir Bay, Egypt. *Saudi Journal of Biological Sciences*, vol 22, 623-630 <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.01.010>.
- Khan, W., Rayirath, U., Subramanian, S., Jithesh, M., Rayorath , P., Hodges, D., Prithiviraj, B. (2009). Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development. *Journal of Plant Growth Regulation*, <https://doi.org/10.1007/s00344-009-9103-x>.
- KrosAgro. (2021). 3 Mejores formas de medir el crecimiento de las plantas. Guía Tuneles de plástico - KrosAgro, <https://krosagro.com/es/tuneles-de-plastico/3-mejores-formas-de-medir-el-crecimiento-de-las-plantas/>.

- Letham, D. (1973). CYTOKININS FROM ZEA MAYS. *Phytochemistry*, doi:10.1016/0031-9422(73)80453-4 .
- Leyton, A., & Vaisman, D. (2021). COMPOSITION RICH IN POLYPHENOLS AND FLAVONOIDS FOR USE AS A BIOSTIMULANT AND ANTIMICROBIAL FOR USE IN AGRICULTURE. Patent scope, <https://patentscope.wipo.int/search/es/detail.jsf?docId=WO2021108932>.
- Lieberman, D., & Lieberman, M. (1987). Forest tree growth and dynamics at La Selva, Costa Rica (1969-1982). *Journal of Tropical Ecology*, vol 3, 347-358 <https://doi.org/10.1017/S0266467400002327>.
- López Guerrero , A. (2015). Producción y comercialización de cacao fino de aroma en el Ecuador - Año 2012 - 2014. Superintendencia de Control del Poder de Mercado, <https://www.scpm.gob.ec/sitio/wp-content/uploads/2019/03/ESTUDIO-DEL-CACAO-IZ7-version-publica-ultima.pdf>.
- López M. , A., & Espinoza M., J. (1995). Manual de nutrición y fertilización del banano. . International Plant Nutrition Institute , [http://nla.ipni.net/ipniweb/region/nla.nsf/e0f085ed5f091b1b852579000057902e/c093707b0327c2fe05257a40005f359f/\\$FILE/N%20F%20Banano.002.002.pdf/N%20F%20Banano.pdf](http://nla.ipni.net/ipniweb/region/nla.nsf/e0f085ed5f091b1b852579000057902e/c093707b0327c2fe05257a40005f359f/$FILE/N%20F%20Banano.002.002.pdf/N%20F%20Banano.pdf).
- Manzano , P., Hernández , J., Quijano Avilés, M., Barragán , A., Chóez Guaranda, I., Viteri, R., & Valle, O. (2017). Polyphenols extracted from *Theobroma cacao* waste and its utility as antioxidant. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, <http://dx.doi.org/10.9755/ejfa.2016-04-388>.
- Marin Castro, G., Nygard, R., Gonzales Rivas, B., & Oden, P. (2005). Stand dynamics and basal area change in a tropical dry forest reserve in Nicaragua. *Forest Ecology and Management*, vol 208, 63 - 75, <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.10.072>.
- Marín Velázquez, M. (2020). Polyphenols and antioxidant activity of aqueous extract of *Musa Acuminata Cavendish* Subgroup (BANANA). *Ciencia e Investigación* , <http://dx.doi.org/10.15381/ci.v23i1.18717>.
- Martillo Aseffe, J., Jaén , R., Oliva Ruiz , L., Martínez González, A., & Silva Lora, E. (2019). Life cycle analysis of the energy use of the waste (corn cob) of the corn crop (*Zea mays*) in the province of Los Ríos, Ecuador. *Tecnología Química*, <https://www.redalyc.org/journal/4455/445560283012/html/#:~:text=Los%20coeficientes%20de%20residuos%20de,0.186%20kg%20tusa%2Fkg%20ma%C3%ADz.&text=Coeficientes%20de%20residuos%20de%20la,R%C3%ADos%20y%20Guayas%20de%20Ecuador>.
- MCE, M. d. (2017). Informe Sector Bananero Ecuatoriano . Ministerio de Comercio Exterior, <https://www.produccion.gob.ec/wp-content/uploads/2019/06/Informe-sector-bananero-esp%C3%B1ol-04dic17.pdf>.

- Meléndez Cerezo, J. (2021). Fitohormonas promotoras en el crecimiento vegetal en la producción del cultivo de banano. Trabajo de titulación - Universidad Técnica de Babahoyo, <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/10206/E-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000322.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Méndez Martínez, Y., Pérez Tamames, Y., Reyes Pérez, J., & Puente Jiménez, V. (2018). *Azolla sp.*, UN ALIMENTO DE ALTO VALOR NUTRICIONAL PARA LA ACUICULTURA. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud, <https://biotecnia.unison.mx/index.php/biotecnia/article/download/527/246/1356#:~:text=La%20composici%C3%B3n%20de%20Azolla%20en,la%20cianobacteria%20endof%C3%ADtica%20Anabaena%20azollae>.
- Mendoza Isaza, N., Hoyos Arbelaéz, J., & Peláez Jaramillo, C. (2020). Antioxidant capacity and total polyphenol content extracts in *Stevia rebaudiana stem* in several in vitro models. EIA, Vol 17, 34, 1-9. <https://doi.org/10.24050/reia.v17i34.1282>.
- Mendoza Morales, L., Mendoza González, A., Mateo Cid, L., & Rodríguez Dorantes, A. (2019). Analysis of the effect as biostimulants of *Sargassum vulgare* and *Ulva fasciata* extracts on *Lens esculenta* growth. Mexican Journal of Biotechnology, <https://doi.org/10.29267/mxjb.2019.4.4.1>.
- Misha, D. J., Singh, R., Mishra, U. K., & Shashi, S. K. (2013). Role of Bio-Fertilizer in Organic Agriculture: A Review. Research Journal of Recent Sciences, <http://www.isca.in/rjrs/archive/v2/ilSC-2012/8.ISCA-ISC-2012-1AFS-32.pdf>.
- Montatixe Sánchez, C. I., & Eche Enriquez, M. D. (2020). Degradación del suelo y desarrollo económico en la agricultura familiar de la parroquia Emilio María Terán, Píllaro. In Siembra, <http://dx.doi.org/https://doi.org/10.29166/siembra.v8i1.1735>.
- Mora González, A., Naranjo Morán, J., Albiño Quitiaquez, A., Flores Cedeño, J., Oviedo Anchundia, R., Galarza Romero, L., Barcos Arias, M. (2021). Optimization in the acclimatization of banana micro propagated seedlings (*Musa sp.*) using three organic inputs. Bionatura, DOI. 10.21931/RB/2021.06.01.3 <http://revistabionatura.com/files/2021.06.01.3.pdf>.
- Negaresh, S., & Marín, I. (2013). El cacao y la salud humana: propiedades antioxidantes del cacaco nicaraguense y productos alimenticios comercializados. Agroforestería en las Américas, <https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/6144/12.Negaresh.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Ordóñez, E., León Arévalo, A., Rivera Rojas, H., & Vargas, E. (2019). Quantification of total polyphenols and antioxidant capacity in skins and seeds from cacao (*Theobroma cacao L.*), tuna (*Opuntia ficus indica Mill*), grape (*Vitis Vinifera*) and uvilla (*Pourouma cecropiifolia*). Scientia Agropecuaria, <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.02.02>.

- Pangestuti , R., Haq, M., Puyi, R., & Chun, B. (2021). Nutritional Value and Biofunctionalities of Two Edible Green Seaweeds ( *Ulva lactuca* and *Caulerpa racemosa*) from Indonesia by Subcritical Water Hydrolysis. *Mar Drugs*, <https://doi.org/10.3390/md19100578>.
- Patel, R., Pandya, K., Jasrai, R., & Brahmabhatt, N. (2017). A REVIEW: SCOPE OF UTILIZING SEAWEED AS A BIOFERTILIZER IN AGRICULTURE. *International Journal of Advanced Research* , <http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/4941>.
- Pelozo de Godoy, M., Carvalho Cardoso, M., & Palazzo de Mello, J. (2008). Spectrophotometric determination of tannins and caffeine in preparations from *Paullinia cupana var. sorbilis*. *Agriculture, Agribusiness and Biotechnology*, <https://doi.org/10.1590/S1516-89132008000300002>.
- Peñañiel Acosta, S., Brito Zúñiga, G., Muñoz Shugulí, G., Zabala Peñañiel , A., & Chafra Moína, A. (2015). UTILIZACIÓN DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES PARA LA PRODUCCIÓN DE PROTEÍNA MICROBIANA. *European Scientific Journal*, <https://eujournal.org/index.php/esj/article/view/6270>.
- Pérez Laytón, L. F., & Pulido Molano, N. S. (2014). Determinación experimental y modelamiento de los perfiles de extracción supercrítica para la obtención de compuestos bioactivos a partir de cáscara de cacao (Clon CCN-51). Trabajo de titulación - Universidad Industrial de Santander, <http://tangara.uis.edu.co/biblioweb/tesis/2014/154798.pdf>.
- Rani Juneius , C., Sundari, M., Eswaralakshmi, R., & Elumalai, S. (2018). Seaweed Liquid Fertilizers: A Novel Strategy for the Biofortification of VegeTables and Crops. *Microbial Biotechnology*, [https://doi.org/10.1007/978-981-10-7140-9\\_5](https://doi.org/10.1007/978-981-10-7140-9_5).
- RedAgrícola. (2017). Fitohormonas: reguladores de crecimiento y bioestimulantes. *Red Agrícola*, <https://www.redagricola.com/cl/fitohormonas-reguladores-de-crecimiento-y-bioestimulantes/>.
- Ricco, R., Wagner , M., Portmann, E., Reides, C., Llesuy, S., Gurni, A. A., & Carballo, M. A. (2010). Survey on polyphenols, antioxidant activity and genotoxicity on argentinean species of *Lippia* and *Aloysia* (Verbenaceae). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas.*, <https://www.redalyc.org/pdf/856/85615225010.pdf>.
- Riera , M. A., Maldonado, S., & Palma, R. R. (2018). RESIDUOS AGROINDUSTRIALES GENERADOS EN ECUADOR PARA LA ELABORACIÓN DE BIOPLÁSTICOS. *Ingeniería Industrial*, <https://doi.org/10.22320/S07179103/2018.13>.
- Ripley , B., Kiguli, L., Barker, N., & Grobbelaar, J. (2003). *Azolla filiculoides* as a biofertiliser of wheat under dry-land soil conditions. *South African Journal of Botany*, [http://dx.doi.org/10.1016/S0254-6299\(15\)30317-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0254-6299(15)30317-3).

- Rubira Carvache, K. (2012). "DIVERSIDAD, ABUNDANCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LAS MACROALGAS EN LA ZONA INTERMAREAL ROCOSO EN LAS PLAYAS DE SALINAS, LA LIBERTAD Y BALLENETA (PENÍNSULA DE SANTA ELENA – ECUADOR OCTUBRE – NOVIEMBRE 2009). Trabajo de titulación Magister en Ciencias - Universidad de Guayaquil , <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/11903/1/Tesis%20Katuska%20Rubira%20131212.pdf>.
- Salehi, B., Sharifi - Rad, J., Loureiro, A., Pinto, D., Michalak, I., Trincone, A., Cruz, N. (2019). Current Trends on Seaweeds: Looking at Chemical Composition, Phytopharmacology, and Cosmetic Applications. *Molecules*, <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24224182>.
- Salgado, J., Vélez, M. I., Cáceres Torres, L., Villegas Ibagón, J., Bernal González, L., Lopera Congote, L., González Arango, C. (2019). Long-Term Habitat Degradation Drives Neotropical Macrophyte Species Loss While Assisting the Spread of Invasive Plant Species. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7:140 <https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00140>.
- Sánchez, C., & Torres, G. (2021). Spatio-temporal variation in the macroalgae composition in the rocky intertidal zone in Salango, Manabí province, Ecuador. *Revista Científica Ciencias Naturales y Ambientales*, <https://www.revistas.ug.edu.ec/index.php/cna/article/download/1321/1564>.
- Sánchez Moreno, C. (2002). Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. *Food Science and Technology International*, <https://journals.sagepub.com/doi/10.1106/108201302026770>.
- Sánchez, A. M., Vayas, T., Mayorga, F., & Freire, C. (2020). Sector Bananero Ecuatoriano. OBEST Universidad Técnica de Ambato, <https://blogs.cedia.org.ec/obest/wp-content/uploads/sites/7/2020/08/Sector-bananero-ecuatoriano-final.pdf>.
- Schofield, P., Mbugua, D., & Pell, A. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, vol 91, 21 - 40. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00228-0](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00228-0).
- Schouteden, N., De Waele, D., Panis, B., & Vos, C. M. (2015). Arbuscular Mycorrhizal Fungi for the Biocontrol of Plant-Parasitic Nematodes: A Review of the Mechanisms Involved. *Frontiers in Microbiology*, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01280>.
- Shaltout, K., El-Komi, T., & Eid, E. (2013). Seasonal variation in the phytomass, chemical composition and nutritional value of *Azolla filiculoides* Lam. along the water courses in the Nile Delta. *Feddes Repertorium*, <https://doi.org/10.1002/fedr.201200001>.

- Sharma , H., Fleming, C., Selby, C., Rao, J., & Martin, T. (2014). Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. . *Journal of Applied Phycology*, <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0101-9>.
- Sheil , D., Burslem, D., & Alder, D. (1995). The Interpretation and Misinterpretation of Mortality Rate Measures. *Journal of Ecology*, vol 83, 331-333, <https://doi.org/10.2307/2261571>.
- Sindhi, V., Gupta, V., Sharma, K., Bhatnagar, S., Kumari, R., & Dhaka, N. (2013). Potential applications of antioxidants – A review. *Journal of Pharmacy Research*, <https://doi.org/10.1016/j.jopr.2013.10.001>.
- Suárez , A. M., Daranas, M. B., & Alfonso, Y. (2015). *Macroalgas de Cuba*. Ed. UH, [https://www.researchgate.net/publication/282110143\\_Macroalgas\\_marinas\\_de\\_Cuba](https://www.researchgate.net/publication/282110143_Macroalgas_marinas_de_Cuba).
- Teneda Llerena, W. F., Guamán Guevara, M. D., & Oyaque Mora, S. M. (2019). Exploration of the intention to consume the Cocoa husk (*Theobroma cacao L.*) as an infusion: Tungurahua-Ecuador case. *Cuadernos de Contabilidad - Pontificia Universidad Javierina*, <https://www.redalyc.org/journal/3836/383665272002/html/>.
- Teniente, J. (2020). Azolla: Una serie amenaza para ecosistemas acuáticos de Extremadura. *Canal Extremadura*, <https://www.canalextremadura.es/noticias/meteorologia/azolla-una-seria-amenaza-para-ecosistemas-acuaticos-de-extremadura>.
- UE. (2019). Reglamento del Parlamento Europeo y del Consejo por el que se establecen normas sobre la comercialización de productos fertilizantes de la UE y se modifican los Reglamentos (CE) n.º 1069/2009 y (CE) n.º 1107/2009 y se deroga el Reglamento (CE) n.º 2003/ 2. *Official Journal of the European Union*, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=OJ:L:2019:170:TOC>.
- Vega - Celedón, P., Canchignia Marínez, H., González , M., & Seeger, M. (2016). Biosynthesis of indole-3-acetic acid and plant growth promoting by bacteria. *Cultivos Tropicales*, <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.5158.3609>.
- Vélez, L. M., Gañan, P., Severiche, J. D., Hincapie, G. A., & Restrepo, M. C. (2009). Aprovechamiento de la fibra dietaria de frutas y/o residuos de su transformación en la elaboración de productos de panificación y de maíz. *Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial* , <https://revistas.unicauca.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/720>.
- Vera, J., Castro, J., González, A., & Moenne, A. (2011). Seaweed polysaccharides and derived oligosaccharides stimulate defense responses and protection against pathogens in plants. *Marine drugs*, <https://doi.org/10.3390/md9122514>.

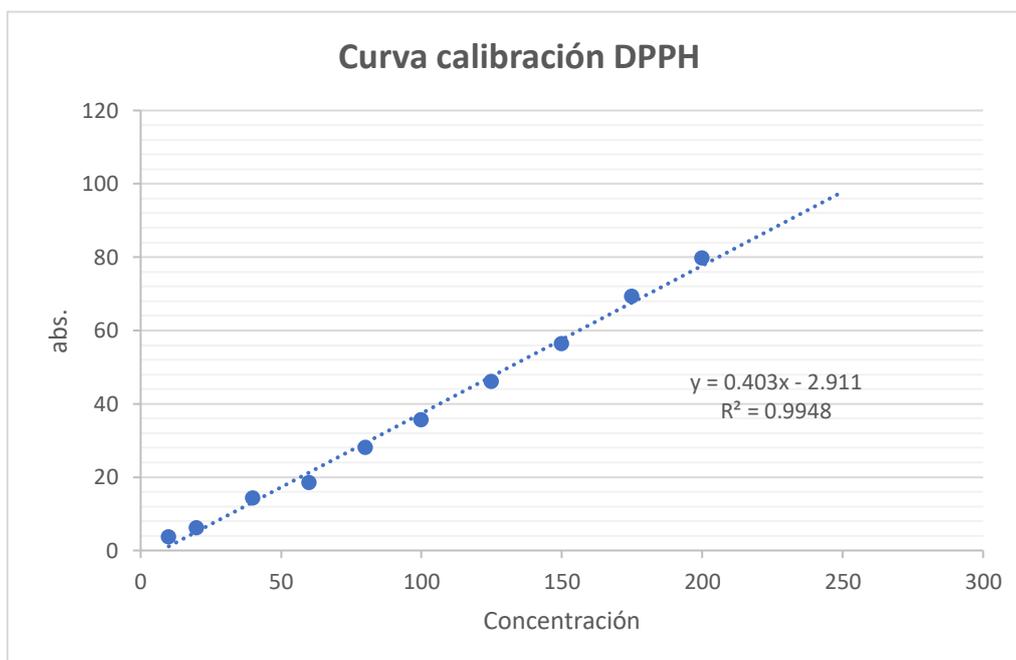
- Villamizar Jaimes, A. R., & López Giraldo, L. J. (2017). Cocoa husk source of polyphenol and fiber: simulation of a pilot plant for their extraction. *Respuestas*, <https://doi.org/10.22463/0122820X.821>.
- Villaño, D., Fernández Pachón, M. S., Moyá, M. L., Troncoso, A. M., & García Parrilla, M. C. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2006.03.050>.
- Viteri, R., Giordano, A., Montenegro, G., & Zacconi, F. (2021). *Eucryphia cordifolia* extracts: Phytochemical screening, antibacterial and antioxidant activities. *Natural Products Research*, <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1960525>.
- Vivanco Carpio, E., Matute Castro, L., & Campo Fernández, M. (2017). Physical-chemical characterization of *Theobroma cocoa L* husk, National varieties and CCN-51. Conference Proceedings UTMATCH - Universidad Técnica de Machala, <https://investigacion.utmachala.edu.ec/proceedings/index.php/utmach/article/view/309/253>.
- Wagner, G. M. (1997). Azolla: A Review of Its Biology and Utilization. *The Botanical Review*, <https://www.jstor.org/stable/4354285>.
- Wally, O., Critcheley, A., Hiltz, D., Craigie, J., Han, X., Zaharia, L., . . . Prithiviraj, B. (2013). Regulation of phytohormone biosynthesis and accumulation in *Arabidopsis* following treatment with commercial extract from the marine macroalga *Ascophyllum nodosum*. *Journal of Plant Growth Regulation*, <https://doi.org/10.1007/s00344-012-9301-9>.
- Yeo, J. D., & Shahidi, F. (2019). Critical Re-Evaluation of DPPH assay: Presence of Pigments Affects the Results. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b02462>.
- Yong, J., Ge, L., Yan Fei, N., & Ngim Tan, S. (2009). The Chemical Composition and Biological Properties of Coconut (*Cocos nucifera L.*) Water. *Molecules*, <http://dx.doi.org/10.3390/molecules14125144>.
- Zhao, Y. (2010). Auxin biosynthesis and its role in plant development. *Annual Review of Plant Biology*, doi: 10.1146/annurev-arplant-042809-112308.
- Zhong, B., Robinson, N., Warner, R., Barrow, C., Dunshea, F. R., & Suleria, H. A. (2020). LC-ESI-QTOF-MS/MS Characterization of Seaweed Phenolics and Their Antioxidant Potential. *Mar Drugs*, <https://doi.org/10.3390/md18060331>.

# Apéndices

## APÉNDICE A

Tabla 2.3.- Curva de calibración DPPH (Viteri, Giordano, Montenegro, & Zacconi, 2021).

V (µL) de metanol	Vol. Sol. Madre (µL)	Concent. Final (µL)
10	990	1000
20	980	1000
40	960	1000
60	940	1000
80	920	1000
100	900	1000
125	875	1000
150	850	1000
175	825	1000
200	800	1000
250	750	1000

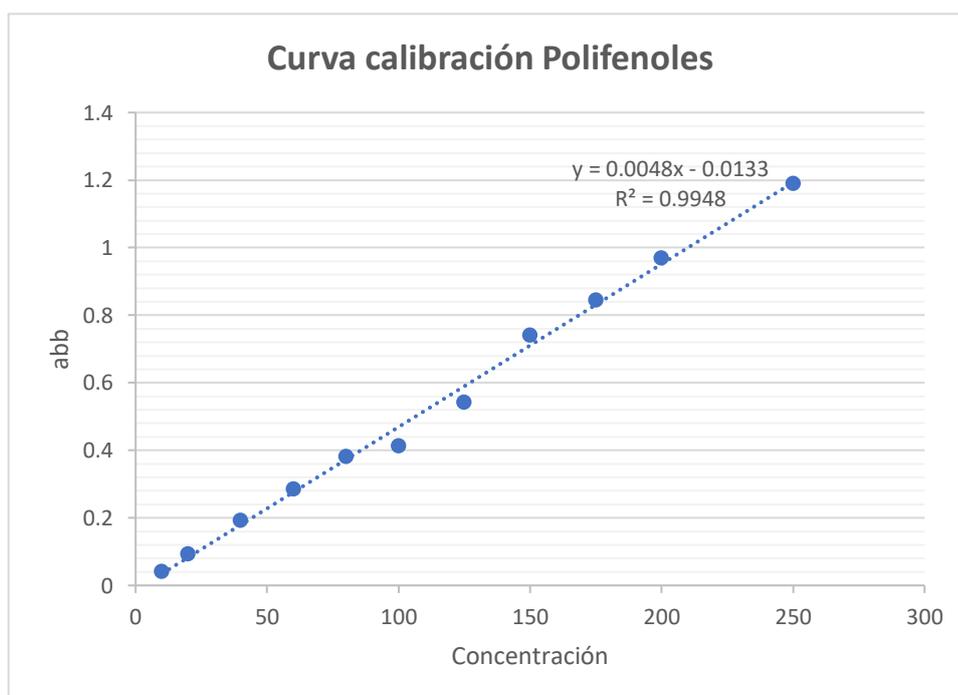


Apéndice 1.- Curva calibración DPPH.

## APÉNDICE B

Tabla 2.0.1.- Curva de calibración Folin – Ciocalteu (Zhong , y otros, 2020).

V (μL) de Sol. Madre	Vol. Metanol (μL)	Concent. Final (μL)
10	990	1000
20	980	1000
40	960	1000
60	940	1000
80	920	1000
100	900	1000
125	875	1000
150	850	1000
175	825	1000
200	800	1000
250	750	1000

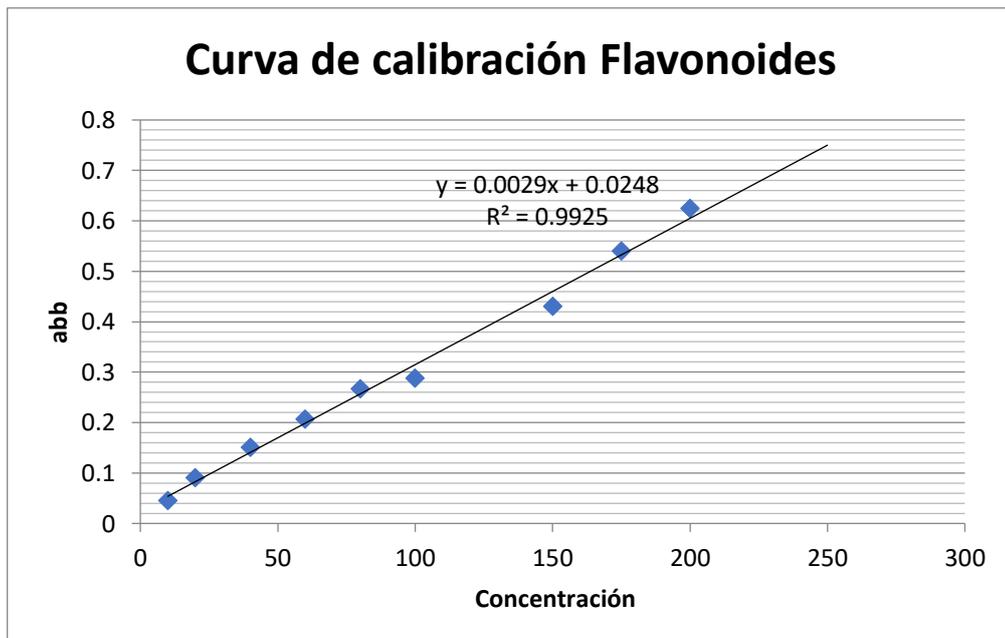


Apéndice 2.- Curva calibración polifenoles.

## APÉNDICE C

Tabla 2.0.2.- Curva de calibración de catequina (Avramova, y otros, 2017)

V (μL) de metanol	Vol. Sol. Madre (μL)	Concent. Final (μL)
10	990	1000
20	980	1000
40	960	1000
60	940	1000
80	920	1000
100	900	1000
125	875	1000
150	850	1000
175	825	1000
200	800	1000
250	750	1000



Apéndice 3.- Curva calibración flavonoides

## APÉNDICE D

	DIA 0		DIA 10		DIA 20		DIA 30	
	TAMAÑO	COLORFI	TAMAÑO	COLORFI	TAMAÑO	COLORFI	TAMAÑO	COLORFI
P L A N T A S  T 1	30.12	13.4	32.13	11.2	53.21	14.1	55.2	20.1
	20.08	4.1	22.04	8.7	27.1	11.5	28.11	13
	20.08	6	22.09	12.4	23.09	14.6	33.13	16.5
	24.09	11.7	31.12	13.1	35.14	13.8	39.15	15
	19.09	7.1	33.13	10	45.18	11.6	46.18	25.8
	24.1	10.3	27.11	11.1	33.13	13.6	35.14	14.3
	19.07	6.8	19.09	8.5	25.1	9.6	25.1	13.4
	12.05	6.6	30.12	9	39.18	13.3	45.18	13.8
	19.08	5.6	21.09	8	36.14	10.7	40.16	13.9
	18.07	1	28.11	5.9	30.12	8.9	33.14	11.7
	16.06	9.7	21.08	10.8	32.13	14.2	43.17	17.7
	19.08	3.1	23.09	5	37.15	14.8	41.16	15.8
	13.05	8.9	32.13	9.2	44.16	13.3	57.23	15.2
	17.07	7.8	19.08	9.1	29.11	12.1	32.13	12.8
	22.09	12.6	31.12	12.2	33.13	15.2	38.15	16.4
	34.14	4.3	46.18	8.7	58.13	17.8	60.24	19.9
	13.05	1.2	23.11	8.6	38.15	8.9	48.19	8.9
	5.02	1.3	20.08	5	21.08	5.6	27.1	13.2
	17.07	9.8	31.12	12.6	44.17	15.8	49.2	20.3
	30.12	10.2	39.15	10.8	44.18	13.3	47.18	15.5
	17.07	2.5	23.09	4.6	23.09	4.9	27.1	5.8
	18.07	10.7	24.09	11.8	33.13	13.2	43.17	14.5
	16.06	6.3	30.12	9.5	39.15	15.3	48.19	16.4
	18.07	3.1	30.2	11.7	36.14	13.1	41.16	15.8
	19.07	1.8	20.08	3.8	25.1	4.5	28.11	11.8
	29.12	10.3	30.2	12.5	31.12	15.1	35.14	15.7
	21.08	10.7	25.1	11.2	40.16	12	43.17	20.1
	14.06	2.2	29.12	8.2	29.12	13.2	35.14	15.3
	21.08	7.2	33.13	8.2	41.16	9.9	48.19	15.5
	18.07	2.7	21.08	8.3	26.1	10.8	30.12	13.1
	35.14	7.9	35.14	8.3	43.17	15.3	50.2	15.8
	23.09	8	29.18	8	30.12	9.7	85.33	20.4
	23.09	5.4	38.15	11.9	52.22	13.7	60.24	19.9
30.12	1.2	31.12	6.7	N.A	N.A	0	N.A	
24.09	6.9	30.12	8.5	36.14	10.5	39.15	16	
20.08	7.2	29.12	9.3	39.16	10.4	44.17	13.7	
26.1	8.3	32.14	9.6	35.14	10.7	35.14	12.7	
23.1	5.8	32.13	7.1	44.17	11.3	51.2	19	
12.05	12	26.1	14.1	45.18	14.7	56.22	19.1	

**Apéndice 4.- Valores de registrados de altura de plantas y cantidad de clorofila para plántulas con SM.**

## APÉNDICE E

P L A N T A S  T 5	TAMAÑO	COLORFI	TAMAÑO	COLORFI	TAMAÑO	COLORFI	TAMAÑO	COLORFI
	17.06	1.2	23	5.4	23.09	5.8	23.09	6.2
	30.12	1.4	34	9	39.16	12.1	42.17	16.2
	22.09	5.3	32	7.6	34.13	8.8	39.16	11.6
	18.07	1.2	19.06	3.3	19.08	3.6	30	4.1
	9.03	4.7	15.06	7.3	26.1	8.6	33	13.4
	24.1	6.7	25.1	7.2	27.11	7.6	44	10.2
	15.06	1.9	23.09	6.7	25	12.4	26.11	12.7
	30.12	2.4	32	2.8	35.14	8.1	35.14	11.5
	34	6	16.06	8.1	25.1	12.2	28.11	20.1
	22	3	30.12	9.7	40.16	14.2	44.18	18.5
	13.05	3.3	19.08	3.5	22.09	6.7	26	7
	24.09	5.9	29.12	9.5	32.13	10.8	35	11.6
	18.07	6.2	25.1	6.6	26.11	9.6	34	12.7
	22	6.1	22.09	6.7	29.12	9.2	30.12	11.6
	16.08	6.4	18	6.9	29.11	9.8	29.12	11.1
	19.07	7.3	35	13.2	36.14	13.9	40.16	16.5
	23	4.5	28.11	7.9	29.12	8.2	33.13	8.6
	24.1	7.2	27.11	8.8	28	10.3	35.14	11.4
	21	6.9	39.15	9.1	42.17	9.6	45.18	12.2
	23.09	5.6	25	8.5	37.13	11.9	52.2	12.1
	26.1	4	26.11	9.8	28	10.6	29.11	13.8
18.07	4.2	23.09	5.4	29.12	5.8	34	10.8	
27.11	4.8	28	8.5	35.14	11.3	39.16	11.9	
31	1.5	37.15	14.2	44.17	15.2	48.19	15.5	
28.11	4.6	28.11	8.4	28.11	8.7	32	10.4	
24.1	7	30.12	10.8	35	13.9	38.15	15.1	
18	1.5	21.05	1.8	27.11	9.1	31.12	11.5	
17	4.6	25.1	7.2	35.14	9.1	36.14	9.8	
15.06	6.5	22.09	9.6	25.1	10.3	36	13.7	
22	5	22.09	8.6	41.16	9.6	44.17	11.5	
28.11	5.6	29.11	6.4	33.13	6.7	41	8.1	
23.09	6.2	30	9.3	48.19	11.1	57.22	13.4	
22.09	2.6	23	9.8	24.09	10.6	28.11	11	
25.1	7.8	33	11.1	38.5	12.6	60.24	13.2	
18.07	9.6	20	17.4	41.16	17.8	43.17	22.8	
35	9.1	35.14	16.9	40.16	19.6	43.17	22.8	
28	6	34.13	6.6	37.14	12.9	43.17	13	
18	10.5	26.1	12.8	27.11	12.8	33.13	14.8	
23	7.5	32.13	9.3	33.13	10.2	33.13	16.2	
26	3.3	27.11	6.3	31.12	8.6	32.12	9.8	

Apéndice 5.- Valores de altura de plantas y cantidad de clorofila T5, [Mite, 2022]

## APÉNDICE F

	DIA 0		DIA 10		DIA 20		DIA 30	
	TAMAÑO	COLORFI	TAMAÑO	COLORFI	TAMAÑO	COLORFI	TAMAÑO	COLORFI
	12.95	2	15.06	2.4	25.1	3.5	31	4.7
	13.05	2.1	15.06	2.7	19.07	NA	27	N.A
	21	1.3	21.08	2.6	25.11	5.3	30.12	6.2
	18.07	3.4	24.1	4.3	27.11	5.1	29	7
	17.07	1.2	22	2.9	24.1	5.2	27.11	5.6
	26	3.5	NA	NA	NA	NA	N.A	N.A
	23.09	1.4	23.09	4.2	27	10.3	29.11	12.5
	20	1.8	20.08	4.5	27.11	11.7	28.11	17.9
	13.05	1.7	13.05	2.5	15.06	4.9	23	5
	14.05	1.8	15.06	2.5	23.09	3.8	32	6.7
	21	1.2	28.11	3	27.11	4.4	28.11	4.8
	20.06	2.9	28	5.9	NA	NA	N.A	N.A
	21	4.4	24.1	3.6	26.1	8.3	26.1	13.3
	16	3.8	22.09	5.8	27.11	7	33.13	8.6
	22	1.9	24.09	5.9	28.11	7.2	36.14	8.9
	30.12	1.2	31.12	5	37.15	7.2	41	9.2
	20.08	4.4	21	8.8	27.11	11.4	28.11	15
	25	1.7	20.08	3.1	22.09	3.9	25.1	7.6
	21	1.2	25.1	5.1	30.12	6.8	35.14	14.1
	20.08	1.5	22	1.2	25.1	3.4	28.11	7.9
	17.06	4	23	5.3	30.12	6.1	31.12	7.1
	20	2.8	30.12	6.4	32.13	8.8	37.14	14.8
	15	1.6	30.12	3.2	31.12	3.6	33.13	9
	20	1.5	28.11	3.8	37.15	11.5	40.16	12.9
	22	5.6	33.13	10.6	30.12	12.1	34.14	14.2
	25.1	2.2	26	9.8	27.11	12.1	30.12	14.5
	20	3.9	30.12	5.9	36.14	8.7	36.15	14.1
	11	1.9	21.11	2.7	36.14	3.1	37.15	3.6
	18	3	22.09	6	25.1	9.8	30.12	10
	20	1.5	21.08	2.9	26.1	4.1	31.12	10.5
	22	4	27.11	4.3	31.12	9.4	35.14	12
	26	1	28.11	2.5	33.13	5.1	36.14	14
	11.05	1.9	16.06	1.7	20	4.5	22.09	4.8
	11	2	27.1	NA	NA	NA	N.A	N.A
	18	1.9	30.12	3.8	32.13	8.7	37.15	8.8
	20	1.2	21.08	1.2	30.12	18.2	30.12	20.5
	21	1.3	28.1	1.7	19.08	3.3	19.08	5.9
	20	1.4	22.08	5.6	23.09	13.6	30.12	15.9
	22	2.5	23.009	6.5	34.13	9.3	35.14	10
	18.08	1.9	27	5.7	36.14	6.6	40.16	14.2

Apéndice 6.- Valores de altura de plantas, cantidad de clorofila T7, [Mite, 2022]

## APÉNDICE G

### Efecto de la aplicación de bioestimulantes sobre plántulas de banano

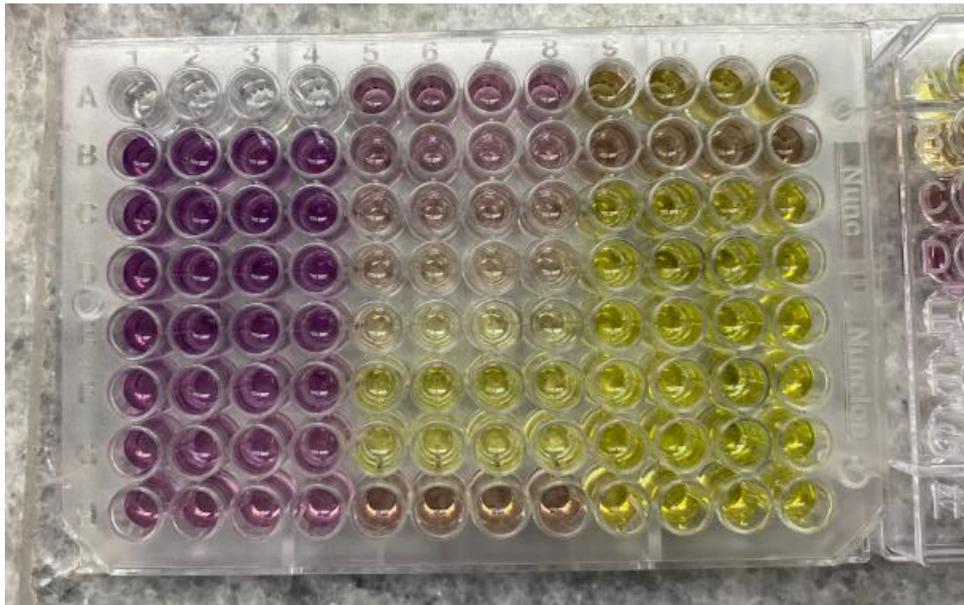
Tratamientos	Enraizamiento (cm)/días			Flavonoides totales/días ug QE/g PS- Desv Stan			Clorofila (ICC)		Altura planta cm		Actividad Antioxidante DPPH (umol EqTrolox/g p.s)- Desv.Standar		Polifenoles totales/día mg GAE/g PS a ug	
	0	30	60*	0	30	60	0	30	0	30	0	30	0	30
<b>Solución madre 100%</b>	1.7	6.4	5.5	871.44 ± 1.117	1427.00 ± 9.02	602.56 ± 3.20	6.710	15.575	2.054	4.277	105.84 ± 1.23	182.78 ± 1.29	762.38 ± 3.74	427.69 ± 9.18
<b>Solución Ulva 10%</b>	2.7	5.7	8.1	610.33 ± 7.77	1649.22 ± 0.96	450.89 ± 2.55	5.128	12.710	2.245	3.719	51.49 ± 1.53	152.60 ± 1.60	671.90 ± 3.28	317.48 ± 0.62
<b>Solución comercial</b>	4.0	3.7	6.4	690.33 ± 8.08	1114.78 ± 7.31	318.67 ± 2.31	2.288	10.328	1.930	3.143	44.01 ± 2.50	164.07 ± 1.40	290.95 ±	992.31 ± 4.18

## APÉNDICE H

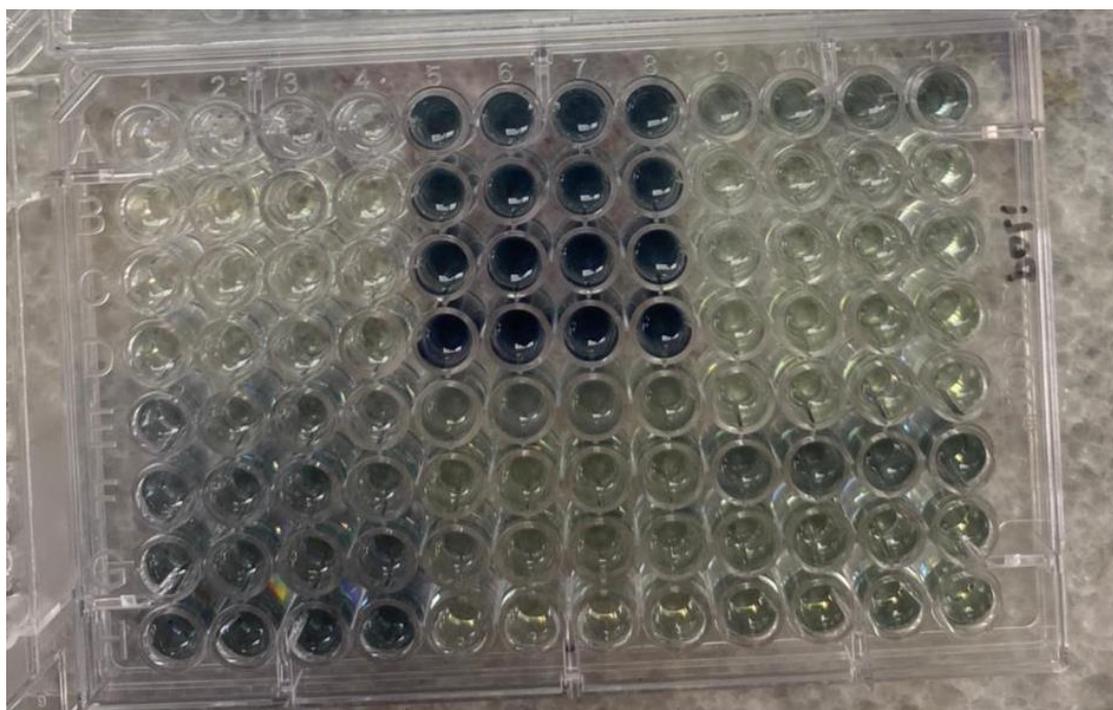
### Caracterización química de productos y plántulas



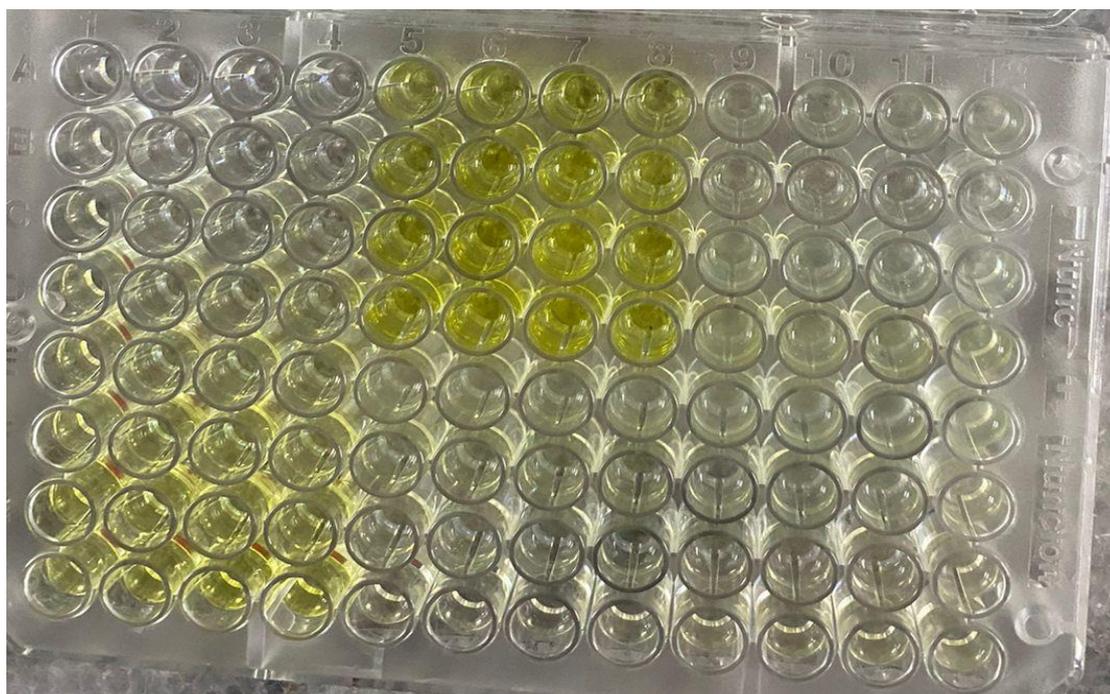
Apéndice 7.- SU, SM, SC listos para ser aplicados.



Apéndice 8.- Ensayo DPPH a bioproductos y extractos metanólicos de plántulas.



**Apéndice 9.- Cuantificación de polifenoles totales a bioproductos y extractos de plántulas.**



**Apéndice 1.- Cuantificación de flavonoides totales a bioproductos y extractos de plántulas.**